



Universidade de Aveiro Departamento de Biologia
Ano 2017

**JULIANA ALMEIDA
D'AMIL**

**DISTRIBUIÇÃO DO MERCÚRIO NOS TECIDOS DE
AVES PREDADORAS**

DECLARAÇÃO

Declaro que este relatório é integralmente da minha autoria, estando devidamente referenciadas as fontes e obras consultadas, bem como identificadas de modo claro as citações dessas obras. Não contém, por isso, qualquer tipo de plágio quer de textos publicados, qualquer que seja o meio dessa publicação, incluindo meios eletrônicos, quer de trabalhos acadêmicos.



**JULIANA ALMEIDA
D'AMIL**

**DISTRIBUIÇÃO DO MERCÚRIO NOS TECIDOS DE
AVES PREDADORAS**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ecologia Aplicada, realizada sob a orientação científica do Doutor António Manuel da Silva Luís, Professor Auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro e coorientação da Doutora Maria Eduarda da Cunha Pereira, Professora Associada do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Dedico este trabalho aos meus pais por sempre acreditarem em mim.

o júri

presidente

Prof. Doutor Carlos Manuel Martins Santos Fonseca
professor associado c/ agregação da Universidade de Aveiro

Prof^a. Doutora Sara Cristina Ferreira Marques Antunes
professora auxiliar convidada da Universidade do Porto

Prof^a. Doutora Maria Eduarda da Cunha Pereira
professora associada da Universidade de Aveiro

agradecimentos

Quero deixar os mais sinceros agradecimentos a todas as pessoas que, de uma forma ou outra, contribuíram para a realização deste trabalho.

Primeiro gostaria de agradecer ao meu orientador, o Professor António Luís, por toda a ajuda, incluindo na recolha das amostras, e também, por não me deixar desanimar perante as dificuldades.

À Professora Eduarda pela colaboração fundamental neste projeto, assim como todo o apoio que sempre me prestou.

Ao Pedro Coelho pela paciência, por tudo o que me ensinou, pelos conselhos e por estar sempre disponível a ajudar.

Ao Ricardo Brandão e restantes elementos do CERVAS (Centro de Ecologia, Recuperação e Vigilância de Animais Selvagens), por terem fornecido as amostras necessárias à concretização deste estudo.

Aos meus pais, que são a minha maior inspiração, agradeço pelo esforço que fizeram para investir no meu percurso académico. Agradeço também por me motivarem e nunca me deixarem desistir, e, por nunca duvidarem de mim, mesmo quando eu própria duvidei.

Ao meu namorado Sebastião por me fazer sorrir mesmo quando tudo parece difícil. Obrigada também pela ajuda e pelo apoio incondicional.

Obrigada ao meu irmão André por estar sempre disponível para me ajudar e aconselhar.

Obrigada também à minha amiga Diana pela motivação e grande paciência para ouvir os meus desabafos.

Por fim, e não menos importante, agradeço à minha restante família, que trazem alegria à minha vida e me tornam uma pessoa melhor.

palavras-chave

Biomonitorização, aves, mercúrio, vários tecidos, *Tyto alba*, *Strix aluco*

resumo

Este estudo teve como principal objetivo a avaliação da concentração total de mercúrio em diversos tecidos de duas espécies de corujas, a *Tyto alba* e *Strix aluco*. As amostras de tecidos foram recolhidas de 22 indivíduos provenientes de diferentes locais do território português (Guarda, Aveiro, Coimbra, Leiria e Viseu). Os tecidos analisados foram o cérebro, pele, músculo, coração, pulmão, trato gastrointestinal, fígado, rim, unha e penas.

Na *T. alba*, os níveis de mercúrio, nos diferentes tecidos, variaram de 0,01 a 4,5 mg/kg em peso seco e apresentaram a seguinte ordem de concentrações: pele < cérebro < trato gastrointestinal < músculo < pulmão < coração < rim < fígado < penas < unha. Em *S. aluco*, os valores de concentração total de mercúrio foram inferiores, variando de 0,02 a 2,1 mg/kg em peso seco, apresentando uma ordem de concentrações muito semelhante à mencionada para a outra espécie, o que indica mecanismos fisiológicos de distribuição do elemento semelhantes entre si.

Verificou-se que as penas e unhas apresentaram correlações positivas com os tecidos internos na *T. alba*, não se registando o mesmo em *S. aluco*. Os valores de mercúrio presentes no fígado e rim apresentaram correlações positivas entre si, nas duas espécies de corujas ($r_{T. Alba} = 0,889$ e $r_{S. aluco} = 0,943$). O mesmo aconteceu entre o músculo e o coração ($r_{T. Alba} = 0,971$ e $r_{S. aluco} = 0,964$), e o pulmão e trato gastrointestinal ($r_{T. Alba} = 0,875$ e $r_{S. aluco} = 0,857$), também em ambas as espécies.

Verificou-se que a faixa etária, o tamanho da ave e a localização, não foram identificados como sendo fatores determinantes na acumulação de mercúrio em ambas as espécies deste estudo.

keywords

Biomonitoring, birds, mercury, several tissues, *Tyto alba*, *Strix aluco*

abstract

The main goal of this study was to evaluate the total mercury concentration *Tyto alba* and *Strix aluco* different tissues. The sample tissues were collected from 22 individuals from different portuguese territory locations (Guarda, Aveiro, Coimbra, Leiria e Viseu). The analyzed tissues were brain, skin, muscle, heart, lung, gastrointestinal tract, liver, kidney, claw and feathers. The mercury levels at *T. alba*'s in different tissues ranged from 0.01 to 4.5 mg/kg in dry weight, and presented the following order of concentrations: skin < brain < gastrointestinal tract < muscle < lung < heart < kidney < liver < feathers < nail. In *S. aluco*, the total mercury concentration values were slightly lower, ranging from 0.02 to 2.1 mg/kg in dry weight, presenting a sequence that is similar to the other specie, meaning that their physiological mechanisms of distribution the element are similar.

There was a correlation between feathers, claws and internal tissues concentrations in *T. alba*, but the same did not happen in *S. aluco*. Liver and kidney also presented correlations in the two owls' species ($r_{T. Alba} = 0,889$ and $r_{S. aluco} = 0,943$). The same occurred in both species with muscle and heart ($r_{T. Alba} = 0,971$ and $r_{S. aluco} = 0,964$), and with lungs and gastrointestinal tract ($r_{T. Alba} = 0,875$ and $r_{S. aluco} = 0,857$).

It was observed that the age group, size and location, didn't seem determinant factors in the accumulation of mercury in both species of this study.

Conteúdos

<i>Lista de figuras</i>	II
<i>Lista de tabelas</i>	III
1. Introdução	1
1.1. Contaminantes inorgânicos	1
1.1.1. Principais elementos potencialmente tóxicos	1
1.2. Mercúrio como contaminante	3
1.3. Aves como biomonitores de contaminação ambiental	5
1.3.1. Importância das aves predadoras topo	6
1.3.2. Estudos de monitorização de contaminação com mercúrio	7
1.4. Corujas como biomonitores de contaminação ambiental	9
1.4.1. <i>Tyto alba</i> ou coruja-das-torres	10
1.4.2. <i>Strix aluco</i> ou coruja-do-mato	12
1.5. Objetivos	15
2. Metodologia experimental	16
2.1. Preparação das amostras	16
2.2. Quantificação de mercúrio nos tecidos das aves	17
2.3. Análise estatística aos dados	17
3. Resultados e discussão	19
3.1. Distribuição de mercúrio nos tecidos de <i>Tyto alba</i> e <i>Strix aluco</i>	20
3.1.1. Comparação da concentração de mercúrio entre espécies	25
3.2. Influência da faixa etária na acumulação de mercúrio nos tecidos de <i>Tyto alba</i> e <i>Strix aluco</i>	26
3.3. Influência do tamanho na acumulação de mercúrio nos tecidos de <i>Tyto alba</i> e <i>Strix aluco</i>	26
3.4. Influência do local de captura na acumulação de mercúrio nos tecidos das espécies <i>Tyto alba</i> e <i>Strix aluco</i>	31
3.5. Comparação dos resultados do presente estudo com os da literatura	32
4. Conclusões e considerações finais	36
5. Referências bibliográficas	38

Lista de figuras

Figura 1 - <i>Tyto alba</i> (Norman West, 2015)	10
Figura 2 - <i>Strix aluco</i> (Phil Winter, 2013)	12
Figura 3 - Concentração média de Hg (mg/kg) nos tecidos da espécie <i>Tyto alba</i> . As linhas a preto representam os valores de desvio padrão. As letras assinalam os tecidos com concentração estatisticamente semelhantes entre si (teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas)	21
Figura 4 - Concentração média de Hg (mg/kg) nos tecidos da espécie <i>Strix aluco</i> . As linhas a preto representam os valores de desvio padrão. As letras assinalam os tecidos com concentração estatisticamente semelhantes entre si (teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas)	22
Figura 5 – Concentração de Hg total (mg/kg) nos diversos tecidos em função do tamanho da asa para a espécie <i>Tyto alba</i> (com a respetiva linha de tendência)	28
Figura 6 – Concentração de Hg total (mg/kg) nos diversos tecidos em função do tamanho da asa para a espécie <i>Strix aluco</i> (com a respetiva linha de tendência)	29

Lista de tabelas

Tabela 1: Informações sobre os indivíduos cedidos da espécie de <i>Tyto alba</i>	19
Tabela 2: Informações sobre os indivíduos cedidos da espécie de <i>Strix aluco</i>	19
Tabela 3: Correlação ρ de Spearman entre os tecidos de <i>Tyto alba</i> – Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH).....	20
Tabela 4: Correlação ρ de Spearman entre os tecidos de <i>Strix aluco</i> – Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH).....	21
Tabela 5: Razão entre as concentrações médias de Hg nos vários tecidos de <i>Strix aluco</i> (s_a) e <i>Tyto alba</i> (t_a) – Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH).....	25
Tabela 6: Correlações entre tamanho da asa e concentração de Hg nos tecidos de <i>Tyto alba</i> . Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH).....	30
Tabela 7: Correlações entre tamanho da asa e concentração de Hg nos tecidos de <i>Strix aluco</i> . Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH).....	30
Tabela 8: Concentrações de Hg (mg/kg, peso seco), encontrados na literatura e obtidos no presente estudo. Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH).....	33
Anexo I.1: Concentrações de Hg total nos tecidos de <i>Tyto alba</i> (mg/kg, peso seco) – Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH). CV – coeficiente de variação (n=3)	48
Anexo I.2: Concentrações de Hg total nos tecidos de <i>Strix aluco</i> (mg/kg, peso seco) – Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH). CV – coeficiente de variação (n=3)	48

Anexo II.1: Concentrações médias de Hg (mg/kg, peso seco), nos tecidos de <i>Tyto alba</i> – Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH).....	49
Anexo II.2: Concentrações médias de Hg (mg/kg, peso seco), nos tecidos de <i>Strix aluco</i> – Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH).....	49

1. Introdução

1.1. Contaminantes inorgânicos

A emissão e deposição antropogénica de contaminantes inorgânicos ocorre desde a era industrial ¹. Com o aumento da procura e consequente produção desses contaminantes químicos nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, surgiram preocupações acerca da acumulação destes contaminantes nos ecossistemas e sobre os seus potenciais impactos na saúde humana ^{2,3}.

A contaminação por químicos inorgânicos pode ocorrer como consequência da ação antropogénica (resíduos industriais, resíduos domésticos, e resíduos agrícolas), mas também como consequência da libertação de substâncias naturalmente existentes nos ecossistemas ⁴.

A maioria dos químicos inorgânicos existentes como contaminantes são metais vestigiais, aniões inorgânicos e materiais radioativos ⁴.

Nas águas superficiais, a presença de contaminantes inorgânicos é uma das questões ambientais de maior importância ⁵. No solo, ocorre absorção e acumulação dos contaminantes pelas partículas, tornando-se estes um dos maiores repositores de químicos inorgânicos dos ecossistemas terrestres ¹.

1.1.1.Principais elementos potencialmente tóxicos

Há milhares de anos que os metais são utilizados nas mais variadas áreas. Consequentemente, a exposição a elementos potencialmente tóxicos é elevada em algumas partes do mundo, principalmente nos países menos desenvolvidos onde não há legislação restritiva ⁶.

Estes podem ser emitidos por diversas fontes, tais como durante a combustão, extração e transformação, de minérios e através de escoamento e fugas industriais e agrícolas ^{6,7}.

Em termos de toxicidade, todos os metais são tóxicos em concentrações mais elevadas ⁷. A toxicidade anual total de todos os metais mobilizados no ambiente excede a de todos os resíduos orgânicos gerados a cada ano ⁸. Parte do

problema deve-se ao facto de os elementos potencialmente tóxicos não poderem ser degradados, necessitando de mobilização ou remoção física ^{7,9}.

A deposição de metais, a longo prazo, leva à sua acumulação, transporte e toxicidade biológica, consequência da sua mobilidade e biodisponibilidade ¹.

Nos humanos a exposição ocorre das mais diversas formas, que variam desde o fumo do tabaco, à alimentação, consumo de água contaminada e ainda devido a efeitos ocupacionais (operadores em minas e em determinadas indústrias). Os impactos na saúde incluem problemas nos rins, fragilização óssea, danos neurológicos, doenças de pele e outros ⁶.

Consequentemente, os metais apresentados na lista abaixo, estão entre os metais prioritários e de maior impacto na saúde pública ^{6,10}. Isto acontece devido ao seu elevado grau de toxicidade, bastando baixos níveis de exposição para afetar múltiplos órgãos ^{3,6}.

- Arsénio (As): industrialmente, é utilizado em lasers, semicondutores, no processamento de vidro, pigmentos, têxteis, conservantes da madeira, pesticidas e fármacos ⁴. A fusão e a produção de energia a partir de combustíveis fósseis, são dois dos principais processos industriais que levam à contaminação do ar, água e solo por arsénio ⁶.
- Cádmio (Cd): ocorre naturalmente em produtos de mineração. Presentemente é usado em baterias recarregáveis de níquel-cádmio. As emissões de Cd estão associadas principalmente à metalurgia de metais não-ferrosos e à combustão de combustíveis fósseis. Para além disso, também está presente nos adubos fosfatados. Normalmente, os produtos que contêm Cd não são reciclados, mas sim despejados junto com resíduos domésticos ⁶.
- Chumbo (Pb): embora a quantidade de Pb presente na gasolina tenha diminuído nas últimas décadas, outras aplicações permanecem, por exemplo, em tintas à base de chumbo. As emissões de chumbo estão também muito ligadas à construção de estradas. A poluição por Pb inorgânico também ocorre em minas e locais de fusão ⁶.

- Mercúrio (Hg): provém do seu ciclo natural e de atividades antropogénicas ¹¹. Nas ultimas décadas era utilizado em termómetros, barómetros e instrumentos para medir a pressão arterial, o que atualmente é proibido ⁶. Foi também utilizado na produção de biocidas, baterias e, mais recentemente, na extração de ouro (Au) ¹². Presentemente, a distribuição de Hg associa-se sobretudo com o nível de consumo de carvão ⁶. Os óxidos, cloretos e sulfetos que origina, têm sido também utilizados como catalisadores na produção de polímeros sintéticos. O fabrico de aparelhos elétricos e produção de cloro e soda cáustica são também importantes aplicações do Hg ⁵.

1.2. Mercúrio como contaminante

O Hg é utilizado pelo Homem desde o tempo dos antigos gregos. As ações antrópicas com libertação de Hg para os ecossistemas duplicaram nos últimos dois séculos, e, atualmente, os países que lideram na produção de Hg refinado são a União Soviética, Espanha, Estados Unidos da América, China e Argélia ^{5,12,14}.

As emissões antropogénicas ocorrem durante a mineração, combustão de combustíveis fósseis (como por exemplo no funcionamento de indústrias termoelétricas a carvão) e incineração de resíduos sólidos ¹⁵⁻¹⁷. A disponibilidade de Hg, por deposição atmosférica, tem vindo a aumentar ¹⁷.

A precipitação do Hg presente na atmosfera em lagos, mares e oceanos e a falta de controlo das indústrias de mineração, fundição e outras, também contribuem para a contaminação dos ecossistemas marinhos ¹⁸. Como o Hg está presente em minérios e outras matérias primas, é muitas vezes descarregado juntamente com outros resíduos produzidos. O Hg acumula-se nos organismos aquáticos e é capaz de persistir por décadas, ou até séculos, registando-se uma bioconcentração deste metal nos organismos expostos ^{5,19}.

Para além disso, o Hg pode também estar naturalmente presente no ambiente em depósitos geológicos ricos em carvão e metais de rochas sedimentares, ígneas e metamórficas ^{5,20}. A emissão natural de Hg resulta da

erosão e vulcanismo, e, a sua mobilização, ocorre por inundações e transporte atmosférico ¹².

Ainda assim, a deposição do Hg deriva maioritariamente da atividade antrópica: 60% é reemitido pelos reservatórios existentes na superfície (principalmente de áreas oceânicas e terrestres), 27% são emissões antropogénicas primárias (como o caso da combustão de combustíveis fósseis), e os restantes 13%, provêm de fontes naturais ¹⁹.

O Hg é uma potente neurotoxina, apresentando riscos significativos para a saúde humana e de outros organismos vivos, sendo capaz de afetar o cérebro e outros órgãos vitais ²¹. Consta assim na lista de substâncias prioritárias para as quais foram estabelecidas normas de qualidade ambiental em 2008 (Directiva 2008/105/CE) ²².

Quando sujeito a determinadas condições o Hg, sofre reações químicas complexas, formando derivados orgânicos altamente tóxicos. A complexação com ligandos orgânicos pode dominar relativamente a complexação com inorgânicos, dependendo das condições ambientais ⁵.

Para além disso pode existir nas formas orgânicas e inorgânicas ¹². Em comparação com o Hg orgânico, o inorgânico é considerado menos tóxico, mas acaba por ser um composto igualmente perigoso porque pode sofrer metilação pela ação de bactérias anaeróbias ou fungos e originar Hg orgânico ou metilmercúrio (MeHg) ^{5,23,24}. A metilação do Hg ocorre em zonas húmidas como lagos, rios e água do mar e pode ser influenciada por vários fatores, estando entre os mais importantes a temperatura, o teor de sulfuretos nos sedimentos e os níveis de oxigénio dissolvido ^{5,25}.

O Hg é mais prejudicial para os organismos na forma de MeHg por ser absorvido numa taxa muito mais rápida que o Hg inorgânico. Nos organismos vivos, as concentrações podem ser elevadas, mesmo em áreas onde os impactos antropogénicos são mínimos ^{5,26,27}. Para além disso, um estudo de Borg (1970) comprova que o MeHg se acumula ao longo da cadeia alimentar, sem perder as suas características toxicológicas ²⁸.

A maioria do Hg está sob a forma de MeHg nos alimentos ingeridos, pelo que é facilmente assimilado pelos organismos vivos, enquanto que a maior parte

do Hg inorgânico é mais rapidamente excretado pelas fezes ¹⁸. Como os peixes estão, geralmente, bastante expostos à contaminação por MeHg, este acaba por causar mais problemas aos consumidores de peixe do que outros contaminantes ⁵.

O MeHg é nocivo para os seres vivos principalmente devido aos efeitos neurológicos, imunológicos e comprometimento reprodutivo ^{12,25,29}. Casos de intoxicação crónica por MeHg levaram à classificação do Hg como grave perigo ambiental ¹².

1.3. Aves como biomonitores de contaminação ambiental

O facto de os contaminantes poderem ter impactos ambientais a longo prazo, é uma questão relevante, levando à necessidade de constantes estudos de monitorização ambiental. Os estudos de monitorização utilizando animais selvagens, podem fornecer informação útil e servir como alerta antecipado, permitindo a deteção precoce dos possíveis impactos. Para além disso, permitem a avaliação do sucesso das medidas de mitigação aplicadas ^{30,31}.

Os primeiros programas de monitorização na Europa começaram nos finais da década de 50 ³¹. Uma pesquisa realizada na Suécia sobre a intoxicação por chumbo da águia-rabalva demonstrou que, se a monitorização da reprodução da águia fosse realizada antecipadamente, os efeitos dos contaminantes diclorodifenildicloroetileno (DDE) e bifenilos policlorados (PCBs), poderiam ter sido identificados atempadamente e os seus impactos poderiam ser minimizados ³².

O valor das aves selvagens como biomonitores de poluição ambiental é bastante reconhecido ^{31,33–35}. Para além de serem animais valiosos para o ser humano, as aves são organismos relativamente fáceis de observar, pelo que constituem um dos grupos de organismos mais bem estudados ³⁶. São também dos taxa mais sensíveis aos contaminantes em ambientes terrestres, devido à sua resposta a alterações ambientais em termos de fisiologia, reprodução (espessura da casca do ovo, sucesso reprodutivo) ou demografia ³⁷.

Os melhores exemplos que demonstram o valor das aves como biomonitores resultam da sua utilização como indicadores qualitativos e quantitativos da

acumulação de pesticidas e metais pesados, com base em matrizes logisticamente mais convenientes e não destrutivas ³⁶.

Em espécies de aves de maior tamanho corporal, as taxas de renovação são mais lentas, pelo que há maior sobreposição entre gerações e uma estrutura etária mais estável. Significa que as alterações populacionais vão ocorrer lentamente, transparecendo as mudanças ambientais de forma ainda mais eficaz ³⁶.

1.3.1.Importância das aves predadoras topo

A acumulação de Hg ao longo da teia alimentar dá-se rapidamente, aumentando os riscos para as aves que se encontram no topo da teia alimentar ^{28,38}. Os perigos tornam-se ainda mais acentuados graças aos mecanismos de seleção natural, havendo, geralmente, a predação frequente de animais fracos, doentes ou intoxicados ²⁸. Consequentemente, as maiores concentrações de contaminantes têm sido encontradas neste grupo de aves ³⁶.

As aves predadoras de topo, estando posicionadas no topo das cadeias alimentares, sofrem o impacto por bioacumulação (contato direto com o contaminante) e bioamplificação (ex: por via de alimentação em crescimento da teia trófica) ³⁹.

Existem muitos fatores que as tornam preferenciais neste tipo de estudos: posição superior na cadeia alimentar, tempo de vida relativamente longo o que permite que ocorra acumulação de contaminantes, exposição ao contaminante num longo período de tempo e espaço, facilidade de captura sem destruição das amostras, e, finalmente, facilidade com que as populações podem ser quantificadas e monitorizadas ³¹.

Para além disso, respondem sensivelmente à exposição a produtos químicos persistentes, bioacumuláveis e tóxicos ^{31,36}. Alterações nas populações destas aves passaram a ser reconhecidos como sinais de alerta e, consequentemente, associados ao uso de químicos nocivos ³⁶. Deste modo, são classificadas como organismos sentinela, auxiliando na monitorização dos contaminantes no ambiente ³¹. Geralmente a monitorização é efetuada com base

em matrizes consideradas não-destrutivas, como os ovos, as penas ou o sangue

36

1.3.2. Estudos de monitorização de contaminação com mercúrio

Na Suécia, na década de 60, foram realizados os primeiros estudos de monitorização de contaminação de Hg com aves predadoras topo ³⁸. Em estudos realizados posteriormente, verificou-se que as aves predadoras de topo apresentavam elevadas concentrações de Hg, o que se justifica pela acentuada bioacumulação e biomagnificação deste contaminante ao longo das redes alimentares ^{16,40,41}.

Um bom exemplo de bioacumulação e biomagnificação está presente num estudo de Lourenço (2011), em que se concluiu que a concentração de Hg aumentou quando a percentagem de mesopredadores na dieta aumentou e a percentagem de consumidores primários diminuiu ¹⁶.

A concentração e distribuição de Hg nas aves pode ainda ser influenciada por vários outros fatores, tanto fisiológicos, como biológicos (dieta, crescimento ou idade, reprodução, muda e migração) ⁴².

Um estudo de Honda (1986) realizado em garças-brancas na Coreia, determinou que as concentrações de Hg eram maiores nas aves mais velhas, sugerindo que a idade e o tempo de exposição são fatores relevantes na contaminação ⁴². Também um estudo de Houserova (2005) em aves aquáticas verificou que o teor de Hg no fígado dos juvenis era inferior ao do fígado das populações adultas, realçando novamente a idade, como um fator importante na acumulação de Hg ⁴³.

Num estudo realizado em Portugal, analisaram-se as concentrações de vários metais em amostras de sangue e tecidos de águia-de-asa-redonda ¹³. O Hg foi considerado como o elemento presente em maiores concentrações, demonstrando a sua necessidade de monitorização.

Atualmente, pensa-se que grande parte da exposição das aves ao Hg é via alimentar, uma vez que este se acumula preferencialmente nos tecidos de peixes e em outras das suas presas ^{12,43-45}. Ruelas-inzunza (2009) comprovou que as

concentrações totais de Hg nos tecidos musculares de aves piscívoras, são mais elevadas do que os valores em espécies não piscívoras, devido ao consumo elevado de peixe contaminado ⁴¹. Para além disso, um estudo de Thompson (1991) acrescenta que fatores como a variação e a especialização da dieta, poderão ser mais importantes do que a idade, como determinantes das concentrações de Hg ⁴⁶.

1.3.2.1. Acumulação do mercúrio em diferentes tecidos

Nos estudos com aves, as matrizes biológicas mais analisadas são as penas, ovos e tecidos internos ^{28,38,42,46-49}. A escolha da matriz depende dos objetivos do trabalho, uma vez que diferentes tecidos podem ter taxas de acumulação e eliminação muito variadas, e assim, fornecer informações diferentes ³¹.

Amostras não-invasivas e não-destrutivas, estão entre os tipos de amostras coletadas mais frequentemente ³¹. Na grande maioria dos esquemas de monitorização, são preferencialmente utilizadas as penas das aves, por ser um método de amostragem não invasivo ^{40,48}.

Vários estudos, abrangendo diferentes espécies, demonstraram uma correlação positiva entre as concentrações totais de Hg das penas e de tecidos internos ⁵⁰⁻⁵². No entanto, a interpretação das concentrações de Hg em penas, para fins de biomonitorização, não é direta. Para além disso, não existe um consenso acerca dos fatores que podem influenciar a deposição do Hg nas penas ⁴⁸.

O estudo da acumulação de Hg nos tecidos internos, pode fornecer explicações importantes relativamente aos mecanismos fisiológicos de distribuição de contaminantes, e ainda, permitir verificar a distribuição corporal dos contaminantes, em caso de exposição. Ainda assim, deve ter-se em conta o estágio de crescimento dos órgãos e tecidos, para a compreensão dos processos de bioacumulação e para estabelecer os critérios toxicológicos para os metais em estudo ⁴².

São muitos os estudos que relatam os efeitos nas aves, consequência da exposição ao Hg. Por exemplo, alguns estudos verificaram que a intoxicação por Hg nas aves pode diminuir o sucesso reprodutivo e provocar alterações

comportamentais ^{12,28,43}. Para além disso, graves disfunções imunológicas e maior suscetibilidade a doenças infecciosas podem também ocorrer, como consequência da toxicidade crónica do Hg, havendo comprometimento da capacidade de produção de anticorpos ⁵³.

Sintomas clínicos como ataxia, letargia, redução do apetite, perda de peso corporal e atrofia muscular foram também documentados, tal como algumas alterações histológicas, como a desmielinização e degeneração de células nervosas do cerebelo e medula espinhal, e desmielinização dos nervos periféricos ²⁸.

1.4. Corujas como biomonitores de contaminação ambiental

De entre as aves predadoras, as aves de rapina, necrópticas e as corujas são consideradas especialmente adequadas para processos de biomonitorização. As espécies mais comumente utilizadas na monitorização são o peneireiro-vulgar (*Falco tinnunculus*), a águia-d'asa-redonda (*Buteo buteo*), a águia-real (*Aquila chrysaetos*), a águia-rabalva (*Haliaeetus albicilla*), o falcão-peregrino (*Falco peregrinus*), a coruja-das-torres (*Tyto alba*) e a coruja-do-mato (*Strix aluco*) ³¹. Estas apresentam respostas visíveis à poluição, que vão desde a acumulação de resíduos, até ao declínio da população, tendo assim um grande valor como espécies de biomonitorização de fauna silvestre, em sistemas terrestres ^{31,39}.

As corujas são consumidores de nível trófico superior e possuem uma grande variedade de presas. Estão amplamente distribuídas, mas são territoriais e, geralmente, não possuem comportamento migratório. Têm altas taxas de reprodução e a sua biologia é bem conhecida atualmente. Para além disso, são sensíveis a uma ampla gama de contaminantes como pesticidas, bifenilos policlorados, metais vestigiais e flúor, sendo aves bastante adequadas em esquemas de biomonitorização ^{31,39}.

Geralmente, as amostras são fáceis de colher e manipular - os ninhos são boas fontes no contexto da monitorização ambiental, devido às amostras biológicas que podem ser colhidas nos mesmos (penas e ovos) ^{39,54}. Também podem

facilmente ser colhidas amostras em carcaças, visto a serem frequentemente vítimas de atropelamento^{54–56}.

1.4.1. *Tyto alba* ou coruja-das-torres

A coruja-das-torres, *Tyto alba* (Figura 1), pertence à ordem Strigiforme e à família Tytonidae. É uma ave de cor clara, com o disco facial branco em forma de coração e tons acastanhados na cabeça e parte superior. Tem olhos de grandes dimensões, que lhe proporcionam uma boa visão, mesmo quando na presença de luz é limitada. Para além disso, também possui uma excelente audição. O seu voo é silencioso, o que lhe traz vantagens na caça noturna^{57,58}.

Geralmente a progenitora põe 5 a 7 ovos. Durante 33 dias, após a eclosão



Figura 1 - *Tyto alba* (Norman West, 2015)

dos ovos, ambos os progenitores alimentam as suas crias, que deixam o ninho com 9 a 12 semanas de idade⁵⁷.

T. alba é encontrada em áreas quentes, nos Estados Unidos e na maior parte da Europa⁵⁷. Em Portugal ocorre por todo o país, sendo aparentemente mais comum no centro e sul⁵⁹. É um predador noturno comum, largamente distribuído, uma vez que tem uma enorme facilidade em habitar em diversos tipos de território^{58,60}.

Geralmente ocupa áreas abertas, incluindo fazendas, pastagens e bosques. É considerada uma coruja cosmopolita porque habita frequentemente nas cidades, bem próxima dos seres humanos^{60–62}. Os seus ninhos normalmente encontram-se em celeiros, árvores ocas, edifícios antigos e torres⁵⁷.

A proximidade da coruja-das-torres com o ser humano pode apresentar diversas vantagens. Por exemplo, esta espécie é predadora de alguns micromamíferos potencialmente prejudiciais à agricultura e à saúde humana. Assim sendo, a diminuição da abundância dessas espécies nefastas é desejável, pelo que é uma boa estratégia criar mais locais para que as corujas possam fazer o seu ninho próximo de zonas agrícolas ^{54,60}.

O sucesso ecológico de *T. alba* deve-se também à flexibilidade da sua dieta ⁶³⁻⁶⁵. Apesar de ser uma ave especializada na captura de micromamíferos, tais como os musaranhos e roedores, é a abundância destes que vai influenciar a composição geral da sua dieta. Assim, a especialização da coruja vai diminuindo com a diminuição da diversidade e abundância das suas principais presas. Em caso de escassez de pequenos mamíferos, a predação é então direcionada a presas alternativas. Essas presas serão de menores dimensões e menor valor energético, e, portanto, menos adequadas à manutenção do predador, como é o caso das aves, insetos, anfíbios e répteis ^{58,60,66}. Devido ao impacto antropogénico que tem ocorrido nos seus habitats, *T. alba* é considerada, de certo modo, uma espécie oportunista e generalista, possuindo a capacidade de adaptar a sua dieta a condições adversas ^{60,64,65}.

As características mais determinantes da ecologia trófica da coruja-das-torres em diferentes habitats são: a distribuição de tamanhos dos mamíferos presa disponíveis numa dada área, a sua abundância relativa e disponibilidade. Para além disso, a possível associação de espécies sintrópicas à coruja também é relevante ^{58,67}. A latitude geográfica da área ocupada pela espécie predadora também é um dos fatores determinantes ⁶⁶.

Alterações no habitat e nos fatores ambientais (como a temperatura, humidade e luz), são exemplos de condições que afetam frequentemente a distribuição e abundância das presas da coruja-das-torres. Isto acontece porque as presas desta coruja são consumidores primários que se alimentam de produtores (plantas), e, esses produtores, são muito condicionados pelos fatores ambientais abióticos, pelo que a sua composição e produtividade vai variar com a área geográfica em questão ⁶⁶.

Comparado com o clima, o tipo de vegetação não parece ter grande influência relativamente à quantidade de mamíferos predados ⁶⁰. Em climas mediterrânicos, há uma maior diversidade trófica, pelo que estas corujas se alimentam de outras presas que não os micromamíferos, isto em comparação com as corujas das zonas de maiores latitudes. Esta generalização da dieta acontece como resposta à menor diversidade e abundância das suas principais presas nesses mesmos locais ⁶⁶.

1.4.2. *Strix aluco* ou coruja-do-mato

Strix aluco ou coruja-do-mato, pertence à ordem Strigiforme, da família Strigidae. Apresenta um disco facial bastante delineado e olhos negros ⁶⁸. A sua plumagem é matizada e a cor varia do castanho avermelhado ao castanho acinzentado. As cores estão relacionadas com a área geográfica e o clima a que a coruja está sujeita ^{69,70}.

S. aluco (Figura 2) faz o seu ninho em florestas, árvores isoladas, sebes, parques e jardins. Muitas vezes utilizam antigos ninhos de outros pássaros ou de esquilos, edifícios antigos ou buracos em rochas. Na ausência de locais de nidificação adequados, reproduzem-se na base das árvores ⁷¹.



Figura 2 - *Strix aluco* (Phil Winter, 2013)

S. aluco não caça durante o voo: espera num poleiro, onde deteta a presa e cai sobre a mesma. Como dependem da audição para encontrar as presas, os barulhos mais altos das cidades, podem interferir com a caça^{72,73}.

A coruja-do-mato pode adaptar-se a fontes alimentares alternativas, pelo que é considerada uma ave de rapina noturna generalista^{73,74}. Mantém os seus territórios restritos e bem definidos, caçando sempre dentro dos seus limites⁷⁵.

S. aluco distribui-se desde a Europa até ao Norte de África, Irão e Sibéria ocidental⁷⁴. Em Portugal, a espécie distribui-se de norte a sul do país, mas a sua abundância varia fortemente de zona para zona, sendo mais frequente no sul. A sua escassa abundância no litoral Centro e Norte, deve-se à elevada fragmentação dos habitats.⁷⁶

Demonstra uma notável flexibilidade às mudanças antropogénicas das paisagens europeias, tendo facilidade em colonizar habitats urbanos⁷⁷. Para além disso, é capaz de habitar em terrenos agrícolas e com poucas árvores⁷⁸.

O sucesso reprodutivo das corujas-do-mato varia com muitos fatores, como por exemplo a abundância de roedores a cada primavera⁷⁹. Assim sendo, esta espécie de coruja, apesar de altamente sedentária, é forçada a adotar outras táticas para superar os períodos com baixa abundância das suas principais presas⁸⁰.

Relativamente às estratégias de reprodução, também estas são adaptadas em caso de escassez de alimento. Algumas corujas não tentam a reprodução, enquanto outras podem até pôr ovos, mas abandonam-nos ou permitem o seu arrefecimento. Muitas vezes podem ser capazes de chocar as crias com sucesso, mas perdem algumas delas devido à incapacidade de as alimentar⁷⁹.

Para além da abundância de roedores, o seu sucesso reprodutivo também depende do padrão de cobertura do território que habita. Territórios pequenos tendem a limitar o sucesso reprodutivo da espécie, já as áreas abertas sem vegetação, apesar de tornarem a caça num processo muito mais fácil para as corujas, normalmente possuem uma baixa densidade de roedores. Ainda assim, os terrenos com densa vegetação também não são vantajosos para a caça, apesar de lá os roedores serem mais abundantes. Geralmente, os territórios mais favoráveis à caça são os de maiores dimensões, que possuem, ao mesmo tempo, uma mistura dos vários tipos de cobertura vegetal, proporcionando unidades fragmentadas de

cobertura, a partir do qual, os roedores podem reproduzir-se, fugir e abrigar-se ⁸¹. Neste tipo de território, as corujas-do-mato têm a possibilidade de utilizar as zonas com mais cobertura vegetal para se reproduzirem e cuidar das suas crias e facilmente deslocar-se até às zonas abertas para caçar as suas presas ⁸⁰.

Como foi referido anteriormente, as presas mais importantes da coruja-do-mato são os pequenos mamíferos, especialmente roedores. A lista de espécies predadas também incluiu aves, insetos, anfíbios e répteis ^{73,74,77,82}.

A sua dieta consiste em 3-5% de pássaros, 5-8% de musaranhos, 42-69% camundongos e ratos, e, finalmente, 22-49% de coelhos, ratazanas e toupeiras, num habitat natural de floresta ⁷⁵. Os pequenos mamíferos mais frequentemente predados são o rato silvestre, *Microtus arvalis*, o rato de colheita, *Micromys minutus*, o rato do campo e o rato do campo de pescoço amarelo, *Apodemus sylvaticus* e *Apodemus flavicollis*, respetivamente, e o pequeno roedor, *Clethrionomys glareolus* ^{74,81,82}. A composição da dieta da *S. aluco* sofre notáveis mudanças entre estações e habitats, causadas pela alteração dos recursos disponíveis às suas presas principais e secundárias ^{73,80,83}.

Nas florestas abertas e fragmentadas, as corujas-do-mato alimentam-se em maior proporção de *Microtus* spp. no inverno e início da primavera. Já os musaranhos *Sorex araneus*, as rãs *Rana temporaria* e as aves são as presas mais comuns no final da primavera e verão ^{73,80,83}.

Usualmente, nos anos de escassez de roedores, a fonte de alimento alternativa são as aves. Esta flexibilidade da *S. aluco*, permite-lhe penetrar em áreas com poucos roedores, como por exemplo as cidades ⁷³. Deste modo, a sua dieta também varia conforme a distância a que se encontra das áreas urbanas ⁸⁴. Nas áreas suburbanas, a dieta é igualmente composta por pequenos mamíferos ^{73,77}. Já nas zonas urbanas, os mamíferos são apenas uma pequena porção do alimento, enquanto que as aves são a sua principal fonte de alimento, particularmente o pardal *Passer domesticus* e outras espécies sinantrópicas (a rola turca e a andorinha-dos-beirais) ^{70,73,77}.

Tanto no meio urbano como no meio suburbano, o aumento do consumo de aves na dieta da coruja-das-torres ocorre em maio e junho ^{73,85}. Também nos

terrenos urbanos e suburbanos, a contribuição proporcional dos mamíferos é menor na primavera e verão e maior no outono e inverno^{70,84}

1.5. Objetivos

A presente tese resulta da combinação da ecologia com a química ambiental. Tendo em conta a falta de informação acerca da acumulação e distribuição de Hg nos tecidos de aves, o principal objetivo deste trabalho consistiu na separação e colheita de amostras de múltiplos tecidos de duas espécies de aves predadoras, *Strix aluco* e *Tyto alba* e na determinação da concentração de Hg total nessas amostras, para avaliar a distribuição deste elemento em vários tecidos de ambas as espécies.

Pretendeu-se também avaliar se alguns fatores como a faixa etária, o tamanho e a localização influenciavam a acumulação deste contaminante nos tecidos das duas espécies.

2. Metodologia experimental

2.1. Preparação das amostras

As amostras foram colhidas pelo Centro de Ecologia, Recuperação e Vigilância de Animais Selvagens (CERVAS) e provêm de corujas *Strix aluco* e *Tyto alba* encontradas mortas, ou posteriormente abatidas, devido a apresentarem ferimentos ou doenças irremediáveis.

Foram cedidas 22 aves (15 da espécie *Tyto alba* e 7 da espécie *Strix aluco*) de várias áreas de Portugal (Guarda, Aveiro, Coimbra, Leiria e Viseu). Os indivíduos eram adultos e sub-adultos, de género desconhecido.

Assim sendo, o foco esteve na distribuição do Hg nos diferentes tecidos, bem como na avaliação dos níveis de contaminação nas diferentes faixas etárias, tamanho e localização das populações de corujas em questão.

Pretendeu-se analisar a maior quantidade possível de tecidos, pelo que foram recolhidas amostras de 10 tecidos diferentes: o cérebro, pele, músculo, coração, pulmão, trato gastrointestinal, fígado, rim, penas e unhas. Como as penas corporais são melhores indicadores de exposição ao Hg do que as penas de voo, seleccionaram-se para análise as penas mais pequenas, localizadas na zona do peito das corujas⁸⁶. As penas recolhidas para análise foram as de menores dimensões.

Posteriormente, as amostras foram separadas e colocadas em sacos individuais de plástico, para depois serem congeladas (exceto as penas e unhas).

Um liofilizador Unicryo MC-4L 60°C (Uniequip, Alemanha) foi utilizado para realizar a secagem a frio e a pressão elevada das amostras de tecidos, que foram posteriormente trituradas com um moinho elétrico, até ficarem sob a forma de pó. Como são tecidos difíceis de triturar, as unhas, pele e penas foram cortadas manualmente em pequenos pedaços.

2.2. Quantificação de mercúrio nos tecidos das aves

A concentração total de Hg foi determinada, em todas as amostras, por combustão térmica da amostra, seguida de espectroscopia de absorção atômica, utilizando um espectrofotômetro AMA 254 (Altec, República Checa), com o software WinAMA.

As amostras sólidas foram pesadas diretamente em barcas de níquel e inseridas no equipamento. Os valores pesados variavam entre 3 a 60 mg, de modo a trabalhar dentro das zonas abrangidas pelas retas de calibração (1ª reta de calibração dos 0,5 aos 30 ng de Hg e a 2ª reta de calibração, para amostras mais contaminadas, dos 100 aos 500 ng de Hg).

No equipamento as amostras são sujeitas a um processo de secagem a 120°C, seguido por decomposição térmica a 750°C, sob fluxo de oxigénio. Os produtos de decomposição são depois transportados por um fluxo de oxigénio e retidos num amalgamador de ouro. O Hg é posteriormente libertado, ao ser sujeito a um breve aquecimento a 950°C e, finalmente, transportado para uma cuvete aquecida a 120°C. A quantificação é efetuada num detetor de radiação UV a 253,6 nm por espectrometria de absorção atômica ⁸⁷.

A exatidão do método foi monitorizada pela análise de um material de referência certificado de uma matriz semelhante às amostras analisadas: hepatopâncreas de lagosta TORT-2 (Hepatopâncreas de lagosta) adquirido ao NRCC-IAEA, Canadá, cuja concentração de Hg certificada é de 0,27±0,06 mg/kg. Os valores medidos diariamente para este material estiveram sempre dentro de um intervalo inferior a 10% relativamente ao valor de referência.

2.3. Análise estatística aos dados

Pelo teste de Shapiro Wilk, verificou-se que, tanto as amostras de *T. alba* como *S. aluco*, apresentam distribuições não normais e, para além disso, segundo o teste de homogeneidade de variâncias, as amostras não são homogéneas. Deste modo, os tecidos em estudo falharam dois dos pressupostos dos testes

paramétricos: distribuição normal e homogeneidade. Assim sendo, escolheram-se os testes não paramétricos para a análise estatística do presente trabalho.

Primeiro efetuou-se a comparação entre diferentes tecidos dentro de cada espécie, pelo teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas.

De seguida, realizou-se a comparação de concentrações de Hg médias entre as diferentes espécies, pelo teste não paramétrico de Mann–Whitney U para amostras independentes.

Foram também calculadas as correlações de Spearman para cada espécie, dos valores de concentrações médias de Hg entre os diferentes tecidos e tamanho da asa.

Para verificar a influência de fatores como a faixa etária e a localização na acumulação de Hg nos tecidos, realizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para três ou mais amostras.

3. Resultados e discussão

A concentração total de Hg foi determinada nos 10 tecidos: trato gastrointestinal, músculo, fígado, rim, pulmão, coração, pele, cérebro, unha e penas (anexos I.1 e I.2).

Informações adicionadas acerca dos indivíduos, como a localização, faixa etária e tamanho da asa, são apresentadas nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1: Informações sobre os indivíduos cedidos da espécie de *Tyto alba*.

Número	Idade	Distrito	Tamanho da asa (mm)
M100/16/A	Adulto	Guarda	280
M188/16/A	Adulto	Aveiro	290
M189/16/A	Adulto	Coimbra	296
M358/17/A	Sub-adulto	Coimbra	293
M361/17/A	Adulto	Leiria	266
M490/16/A	Indefinido	Leiria	287
M541/16/A	Adulto	Coimbra	283
M579/16/A	Adulto	Coimbra	294
V122/16/A	Adulto	Coimbra	319
V140/16/A	Sub-adulto	Guarda	298
V299/16/A	Adulto	Coimbra	282
V347/16/A	Sub-adulto	Viseu	263
V372/16/A	Sub-adulto	Coimbra	278
V577/16/A	Adulto	Guarda	291
V580/16/A	Adulto	Aveiro	296

Tabela 2: Informações sobre os indivíduos cedidos da espécie de *Strix aluco*.

Número	Idade	Distrito	Tamanho da asa (mm)
M510/16/A	Adulto	Viseu	278
V083/16/A	Sub-adulto	Coimbra	270
V093/16/A	Adulto	Coimbra	257
V155/16/A	Adulto	Viseu	282
V156/16/A	Adulto	Guarda	253
V222/17/A	Adulto	Guarda	280
V456/16/A	Adulto	Guarda	267

3.1. Distribuição de mercúrio nos tecidos de *Tyto alba* e *Strix aluco*

Os valores de concentração total de Hg nos tecidos variaram entre 0,02 a 2,1 mg/kg de peso seco, na *S. aluco*, e 0,01 a 4,5 mg/kg de peso seco.

Verificou-se uma correlação fortemente positiva entre penas e unhas e os tecidos internos na *T. alba* (consultar tabela 3), o que é suportado pela literatura ^{46,51,86}. O mesmo não se verificou em *S. aluco* (consultar tabela 4), podendo justificar-se pelo número inferior de indivíduos que foi possível analisar ou, possivelmente, por os indivíduos analisados serem aves num avançado estado de decomposição.

Tabela 3: Correlação ρ de Spearman entre os tecidos de *Tyto alba* – Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH).

	F	M	R	T	CE	CO	PE	PU	PEN	UNH
F	1,000	0,886	0,889	0,864	0,825	0,939	0,861	0,807	0,554	0,600
M		1,000	0,968	0,886	0,954	0,971	0,964	0,929	0,689	0,686
R			1,000	0,936	0,925	0,950	0,986	0,954	0,643	0,632
T				1,000	0,807	0,900	0,904	0,875	0,589	0,475
CE					1,000	0,914	0,943	0,936	0,718	0,782
CO						1,000	0,921	0,904	0,614	0,643
PE							1,000	0,939	0,679	0,668
PU								1,000	0,714	0,739
PEN									1,000	0,836
UNH										1,000

\

Tabela 4: Correlação ρ de Spearman entre os tecidos de *Strix aluco* – Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH).

	F	M	R	T	CE	CO	PE	PU	PEN	UNH
F	1,000	0,786	0,943	0,857	0,714	0,893	0,821	1,000	0,357	-0,071
M		1,000	0,829	0,929	0,786	0,964	0,893	0,786	0,429	0,071
R			1,000	0,943	0,486	0,943	0,829	0,943	-0,086	0,086
T				1,000	0,714	0,964	0,964	0,857	0,214	0,107
CE					1,000	0,750	0,821	0,714	0,643	0,357
CO						1,000	0,929	0,893	0,393	0,000
PE							1,000	0,821	0,321	0,250
PU								1,000	0,357	-0,071
PEN									1,000	0,357
UNH										1,000

No geral, as maiores concentrações de Hg foram obtidas na unha, penas, fígado e rim, enquanto que concentrações mais baixas foram obtidas no músculo, trato gastrointestinal, cérebro e pele, nas duas espécies (Figuras 3 e 4).

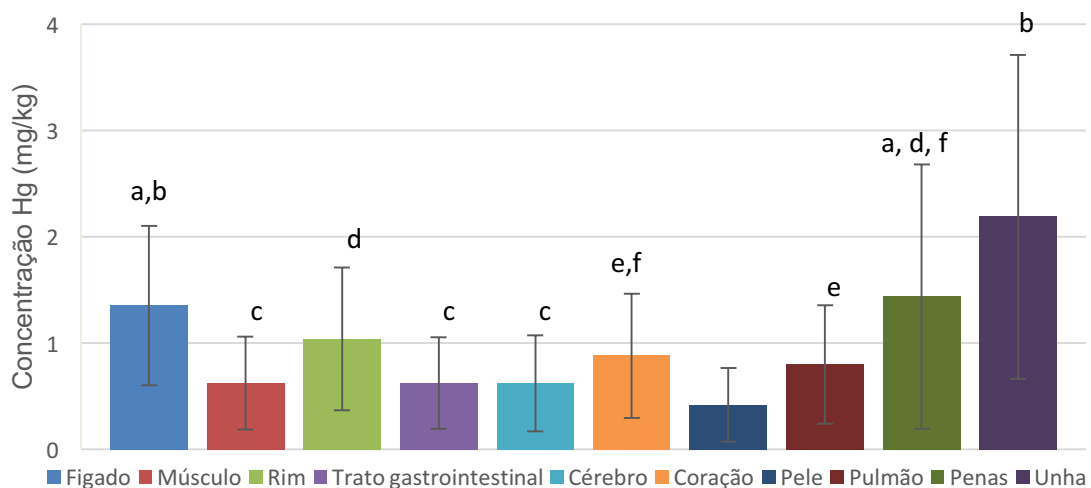


Figura 3 - Concentração média de Hg (mg/kg) nos tecidos da espécie *Tyto alba*. As linhas a preto representam os valores de desvio padrão. As letras assinalam os tecidos com concentração estatisticamente semelhantes entre si (teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas).

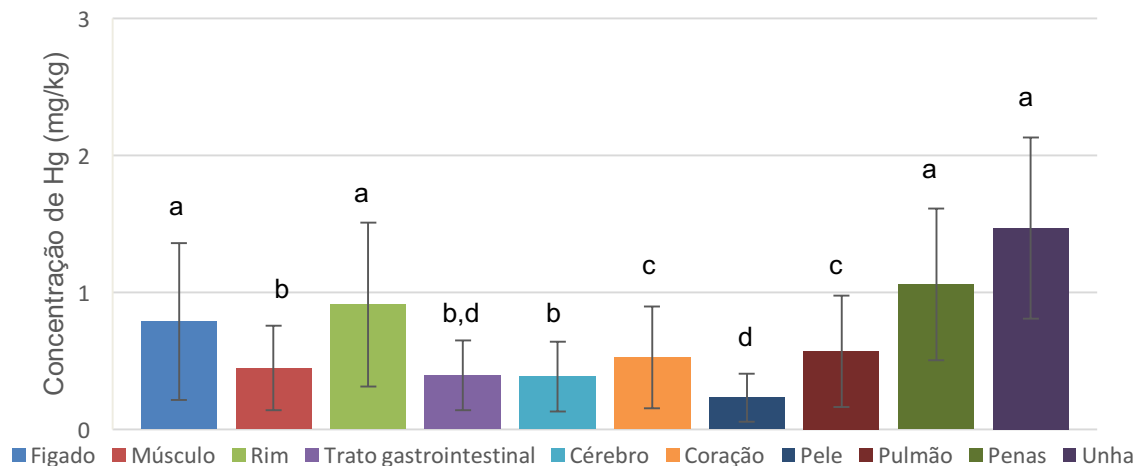


Figura 4 - Concentração média de Hg (mg/kg) nos tecidos da espécie *Strix aluco*. As linhas a preto representam os valores de desvio padrão. As letras assinalam os tecidos com concentração estatisticamente semelhantes entre si (teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas).

A unha e as penas apresentaram os valores mais elevados, com concentrações médias de $2,2 \pm 1,5$ mg/kg e $1,4 \pm 1,2$ mg/kg de peso seco, em *T. alba* e $1,5 \pm 0,66$ mg/kg e $1,1 \pm 0,55$ mg/kg de peso seco, em *S. aluco*, respetivamente.

As penas têm sido identificadas como importantes vias eliminatórias de Hg: à medida que crescem, o Hg acumulado diminui ao longo do tempo^{88,89}. O mesmo se prevê acontecer com a unha, pois como em ambos os casos são tecidos queratinizados. A concentração de Hg vai aumentar ao longo da sua formação e crescimento, funcionando, de certa forma, como agentes excretadores dos contaminantes existentes no organismo, justificando assim os altos níveis obtidos nessas matrizes.

É importante realçar algumas diferenças entre as unhas e as penas: a queratinização ocorre de forma diferente, e, para além disso, as formas de crescimento também são diferentes (por exemplo as garras apresentam um crescimento contínuo)⁹⁰. Deste modo, os resultados obtidos, representam diferentes níveis de Hg, ou seja, as unhas transparecem a quantidade de Hg corporal recente, enquanto que as penas refletem a quantidade de Hg em circulação no sangue, quando determinada pena se formou⁹¹. Isto explica a diferença de valores entre os dois tecidos na mesma espécie, que por exemplo, no

caso específico de *T. alba*, apresentou diferenças significativas entre as concentrações médias dos mesmos (Teste Wilcoxon para amostras emparelhadas, $p < 0.05$).

Verificou-se uma correlação fortemente positiva entre penas e unhas e os tecidos internos na *T. alba* (consultar tabela 3), o que é suportado pela literatura ^{46,51,86}. O mesmo não se verificou em *S. aluco*, podendo justificar-se pelo número inferior de indivíduos que foi possível analisar ou, possivelmente, por os indivíduos analisados serem aves num avançado estado de decomposição (consultar tabela 4).

Elevadas concentrações de Hg total foram também observadas no fígado e no rim ($1,4 \pm 0,75$ mg/kg e $1,0 \pm 0,67$ mg/kg de peso seco em *T. alba* e $0,79 \pm 0,57$ mg/kg e $0,91 \pm 0,60$ mg/kg de peso seco em *S. aluco*, respetivamente). Estes órgãos apresentaram também correlações fortemente positivas entre si em ambas as espécies ($r_{T. Alba} = 0,889$ e $r_{S.aluco} = 0,943$). Muitos estudos na literatura suportam estes resultados, realçando o papel destes órgãos na destoxificação e eliminação do Hg ^{43,86,92}. Isto deve-se ao importante papel do fígado na metabolização e excreção do Hg do organismo. Neste órgão pode também ocorrer a desmetilação de Hg para as suas formas inorgânicas ⁴³. No rim ocorre a acumulação Hg principalmente na forma inorgânica, sendo posteriormente excretado pela urina ⁹³.

Curiosamente, *T. alba* e *S. aluco* apresentaram os valores de concentração mais baixos na pele, com valores de $0,42 \pm 0,35$ mg/kg e $0,23 \pm 0,17$ mg/kg de peso seco, respetivamente. Estes resultados contrariam o verificado num estudo de Honda (1986) com a garça-branca-grande, onde na pele se obtiveram concentrações mais elevadas, justificando-se pelo facto de tratar de um dos tecidos mais resistentes, tal como é o caso das penas e ossos ⁴².

O cérebro apresentou baixos valores de concentração de Hg ($0,39 \pm 0,26$ e $0,62 \pm 0,45$ mg/kg de peso seco em *S. aluco* e *T. alba*, respetivamente), o que está de acordo com a literatura ^{42,92}. Estes valores podem justificar-se pela existência de barreiras cerebrais, que se dividem em duas interfaces: a interface sangue-cérebro (barreira hematoencefálica) e a interface sangue-líquido cefalorraquidiano (LCR). Uma das suas funções é proteger o sistema nervoso central (SNC) contra o ataque de contaminantes, como por exemplo metais potencialmente tóxicos ⁹⁴.

A barreira hematoencefalica é uma barreira de difusão muito seletiva, formada por células endoteliais, intercaladas por junções apertadas, que excluem seletivamente a maioria das substâncias transportadas pelo sangue, impedindo a sua entrada no SNC. Geralmente, para passar a membrana, as substâncias necessitam de ter afinidade com transportadores específicos ⁹⁵. Um outro mecanismo de defesa endógeno proposto, consiste no sequestro dos metais pelos astrócitos, que limitam a difusão dos íons metálicos para outras partes do cérebro ⁹⁴. Ainda assim, a sensibilidade e tolerância das células constituintes da barreira cerebral à toxicidade dos metais, requer ainda alguma investigação adicional.

As baixas concentrações no tecido muscular ($0,45 \pm 0,31$ mg/kg de peso seco em *S. aluco* e $0,63 \pm 0,44$ mg/kg de peso seco em *T. alba*), justificam-se possivelmente pela diluição do Hg, tanto pelo crescimento do músculo, como pela perda de tecido, já que as proteínas existentes sofrem constante degradação devido ao processo de *turnover*. Para além disso, quando o Hg é ingerido em quantidades mais baixas vai ligar-se principalmente a proteínas com *turnover* ainda mais rápido ⁹⁶.

O músculo apresentou também uma forte correlação positiva com o coração nas duas espécies de corujas ($r_{T. Alba} = 0,971$ e $r_{S. aluco} = 0,964$), presumivelmente por se tratarem tecidos semelhantes (o coração é um músculo). O coração apresentou valores de concentração média de $0,52 \pm 0,37$ e $0,88 \pm 0,58$ mg/kg de peso seco, em *S. aluco* e *T. alba*, respetivamente. Estes valores foram estatisticamente semelhantes aos valores obtidos no pulmão ($0,57 \pm 0,41$ mg/kg de peso seco em *S. aluco* e $0,80 \pm 0,56$ mg/kg de peso seco em *T. alba*), suportando um estudo de Rodrigues (2014) com sacarrabos, onde estes órgãos também apresentaram valores de concentração de Hg semelhantes entre si.

Finalmente, o pulmão e trato gastrointestinal apresentaram também, uma forte correlação positiva em ambas as espécies ($r_{T. Alba} = 0,875$ e $r_{S. aluco} = 0,857$), com o trato gastrointestinal a apresentar valores de $0,62 \pm 0,43$ mg/kg de peso seco em *T. alba* e $0,39 \pm 0,33$ mg/kg de peso seco em *S. aluco*. Como estes órgãos funcionam como vias de entrada direta de contaminantes nos organismos (por exposição), os resultados obtidos são, possivelmente, consequência do seu papel

nos processos de acumulação do organismo, refletindo o grau de contaminação no ar e/ou na dieta destas corujas.

3.1.1. Comparação da concentração de mercúrio entre espécies

Nas figuras 3 e 4 é possível verificar que os níveis de Hg total nas duas espécies são semelhantes entre si. O teste de Mann–Whitney U demonstrou que, não existem diferenças significativas entre as duas espécies em estudo, para todos os tecidos analisados ($p > 0,05$).

O facto de não se observarem diferenças significativas entre as espécies pode ser justificado pela variabilidade intrínseca nos resultados obtidos para cada uma das espécies, que se reflete nas barras de erro apresentadas nas figuras 3 e 4. Isto acontece porque o número de amostras é pequeno, pelo que não foi possível testar a interação entre os diversos fatores (género, tamanho, localização e faixa etária), que podem ter influenciado os resultados.

Estas variáveis têm obviamente influência nas concentrações de contaminantes, e, como os indivíduos analisados possuem possíveis variações nesses parâmetros, há uma grande variabilidade dentro de cada espécie.

Apesar de a variabilidade natural levar a que não hajam diferenças significativas entre as espécies, as razões acima calculadas (consultar tabela 5) permitem verificar que *T. alba* apresenta, consistentemente, concentrações médias mais altas que *S. aluco*.

Tabela 5: Razão entre as concentrações médias de Hg nos vários tecidos de *Strix aluco* (S_a) e *Tyto alba* (T_a) - Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH).

F_{S_a}/F_{T_a}	M_{S_a}/M_{T_a}	R_{S_a}/R_{T_a}	T_{S_a}/T_{T_a}	CE_{S_a}/CE_{T_a}	CO_{S_a}/CO_{T_a}	PE_{S_a}/PE_{T_a}	PU_{S_a}/PU_{T_a}	PEN_{S_a}/PEN_{T_a}	UNH_{S_a}/UNH_{T_a}
0,58	0,71	0,87	0,63	0,62	0,59	0,55	0,71	0,74	0,67

Isto pode explicar-se pela posição de ambas na cadeia trófica: são ambas aves predadoras topo, com dietas muito semelhantes. No entanto a *S. aluco* é campestre, enquanto a *T. alba* é citadina, estando provavelmente mais exposta à poluição atmosférica e terrestre. O mesmo se sucede com as presas das quais se

alimenta (por exemplo o rato urbano), que terão, conseqüentemente, maiores níveis de acumulação de Hg. Há assim um aumento da acumulação de Hg nos tecidos de *T. alba* por biomagnificação.

Contudo, as razões da concentração para as duas espécies são muito próximas para todos os tecidos, o que sugere alguma consistência na distribuição de Hg nos tecidos das duas espécies, refletindo mecanismos fisiológicos de distribuição de contaminantes semelhantes entre as espécies.

3.2. Influência da faixa etária na acumulação de mercúrio nos tecidos de *Tyto alba* e *Strix aluco*

Para avaliar o efeito da faixa etária das corujas no padrão de acumulação de Hg nos vários tecidos, formaram-se dois grupos: o grupo dos adultos e o grupo dos sub-adultos (*T. alba*: 10 adultos e 4 sub-adultos; *S. aluco*: 6 adultos e 1 sub-adulto).

Estudos de Honda (1986) e Houserova (2005) com aves, verificaram que o teor de Hg das crias e juvenis era inferior aos das populações adultas, realçando novamente a faixa etária, como um fator importante na acumulação de Hg. Isto não se verificou no presente estudo, que pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, se concluiu não existirem diferenças significativas nas concentrações de Hg entre os diferentes indivíduos com faixas etárias diferentes.

Thompson (1991) defende que fatores como a variação e a especialização da dieta, poderão ser mais determinantes das concentrações de Hg, comparativamente à idade, podendo ser uma das possíveis explicações para este resultado.

3.3. Influência do tamanho na acumulação de mercúrio nos tecidos de *Tyto alba* e *Strix aluco*

Para explorar os resultados apresentados em 3.2, foi também avaliado o efeito do tamanho das corujas na acumulação de Hg nos vários tecidos, pois o tamanho reflete, de certa forma, a faixa etária dos indivíduos. Para isso, selecionou-se a medida biométrica que melhor reflete o tamanho geral das corujas: o tamanho da asa (com penas).

Os resultados são apresentados nas Figuras 5 e 6, para cada espécie, em que se representa a concentração de Hg em função do tamanho da asa, para os vários tecidos. Nestas Figuras acrescentou-se uma linha de tendência para cada tecido para uma melhor avaliação do efeito do tamanho na acumulação de Hg.

Tyto alba

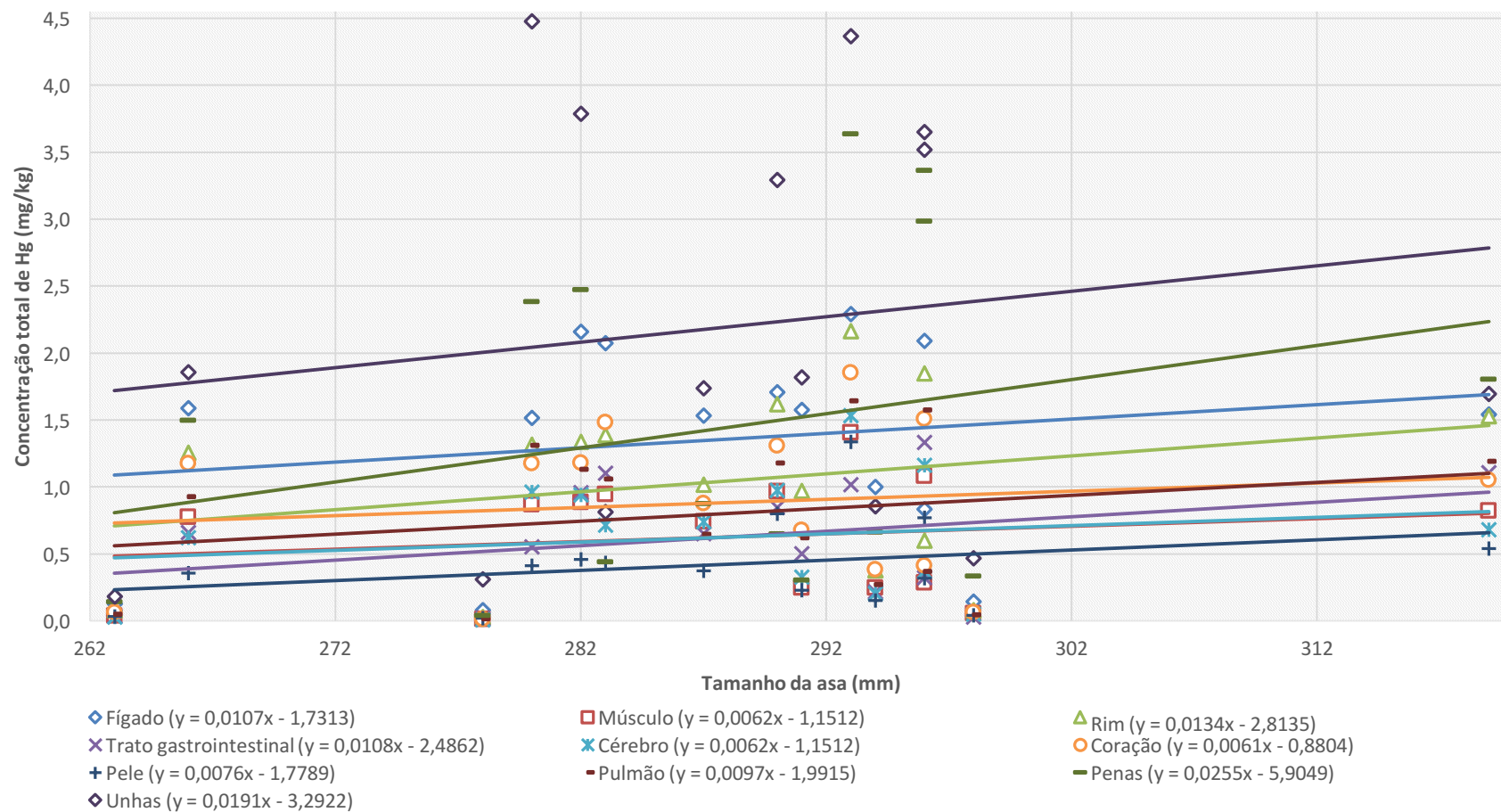


Figura 5 – Concentração de Hg total (mg/kg) nos diversos tecidos em função do tamanho da asa para a espécie *Tyto alba* (com a respetiva linha de tendência).

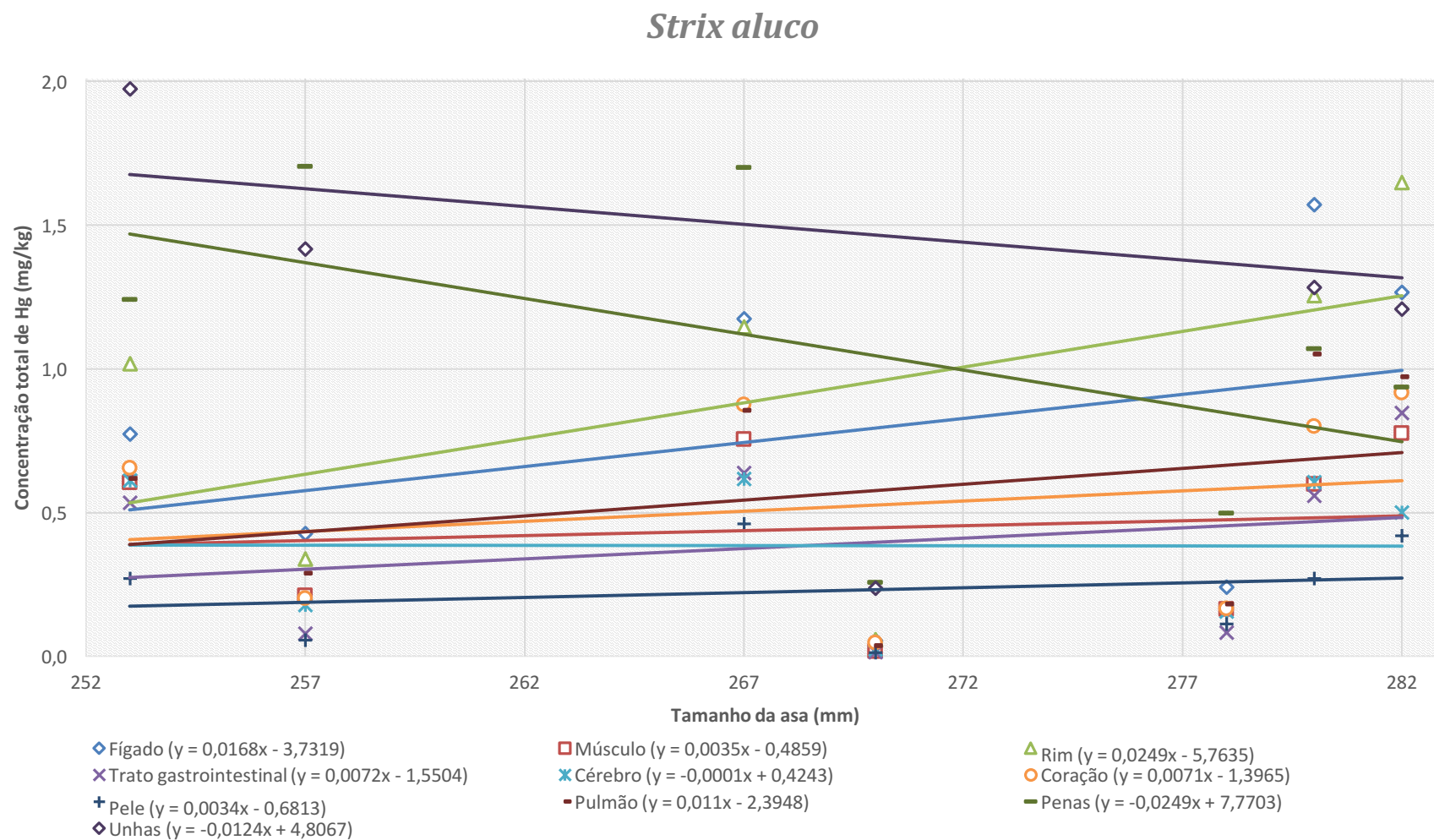


Figura 6 – Concentração de Hg total (mg/kg) nos diversos tecidos em função do tamanho da asa para a espécie *Strix aluco* (com a respetiva linha de tendência).

Verifica-se que o tamanho não teve influência relevante nas concentrações de Hg nas duas espécies de coruja. Esta conclusão foi comprovada estatisticamente, onde não se verificou qualquer correlação entre o tamanho da asa e a concentração total de Hg, tanto em *T. alba* com em *S. aluco* (Tabelas 6 e 7).

Tabela 6: Correlações entre tamanho da asa e concentração de Hg nos tecidos de *Tyto alba*. Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH).

	F	M	R	T	CE	CO	PE	PU	PEN	UNH
Asa	0,102	0,175	0,263	0,239	0,147	0,048	0,273	0,173	0,352	0,105

Tabela 7: Correlações entre tamanho da asa e concentração de Hg nos tecidos de *Strix aluco*. Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH).

	F	M	R	T	CE	CO	PE	PU	PEN	UNH
Asa	0,393	0,143	0,600	0,429	-0,250	0,321	0,286	0,393	-0,571	-0,357

Vários estudos apresentaram resultados diferentes dos encontrados no presente estudo. Goutner (2001) verificou que, em ninhadas da garça-caranguejeira (*Ardeola ralloides*), as maiores concentrações de Hg estavam associadas a taxas de crescimento mais lentas. Isto explica-se pelo efeito de diluição que ocorre quando a taxa de crescimento da massa excede a taxa de incorporação de Hg nos tecidos internos. Deste modo, o aumento do tamanho corporal, consequente do crescimento da ave, pode diminuir a acumulação de Hg nas penas, uma vez que este acaba por ser diluído nos órgãos internos em crescimento ^{46,98}.

Num estudo de Roque (2016) com *T. alba*, também se verificou o efeito de diluição referido anteriormente. Para além disso, os níveis de Hg demonstraram-se maioritariamente associados à massa corporal e menos associados à idade dos indivíduos amostrados. A bioacumulação de Hg em *T. alba* aparentou também depender do habitat, das utilizações do solo e da proximidade a fontes industriais. Estes fatores determinam a composição e distribuição da vegetação, a disponibilidade de presas e a contaminação por Hg no solo, induzindo variabilidade na forma como este metal pode ser acumulado nas corujas. Inevitavelmente, a transferência de Hg vai ocorrer também ao longo da cadeia alimentar ⁵⁴.

3.4. Influência do local de captura na acumulação de mercúrio nos tecidos das espécies *Tyto alba* e *Strix aluco*

Os locais de recolha das aves foram Guarda, Aveiro, Coimbra, Leiria e Viseu, sendo a maioria das corujas de ambas as espécies, provenientes da Guarda e Coimbra.

Assim sendo, foram utilizados apenas os dados das corujas provenientes desses dois locais, que são as que permitem ter um maior número (*T. alba*: 3 da Guarda e 7 de Coimbra; *S. aluco*: 3 da Guarda e 2 de Coimbra), e uma maior robustez nesta análise, tendo em conta o número reduzido de indivíduos disponibilizados.

Efetuuou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e concluiu-se que não existem diferenças significativas nas concentrações de Hg em todos os tecidos, entre os dois locais considerados.

Um estudo de Dietz (2000) considera os hábitos alimentares como uma possível razão para as diferenças entre os níveis de mercúrio em ursos polares provenientes de diferentes locais⁹⁹. Tendo em conta a flexibilidade da dieta de *Tyto alba* e *Strix aluco*, esta pode ser consideravelmente diferente entre as áreas, dependendo das presas disponíveis. Como no presente estudo foram consideradas amostras de apenas dois locais, não se verificaram diferenças significativas. Uma possível explicação é que o alimento disponível seja semelhante na Guarda e em Coimbra. Idealmente deveria analisar-se um maior número de corujas, de modo a permitir a comparação de mais que dois locais, para reforçar esta conclusão.

Sabe-se ainda que a concentração de mercúrio nos tecidos dependerá maioritariamente da disponibilidade de alimentos, da sua abundância e da carga de contaminantes. Esses fatores vão, obviamente, variar com a localização dos indivíduos. Para além disso, diferentes padrões genéticos também podem ser um fator a ser considerado¹⁰⁰.

3.5. Comparação dos resultados do presente estudo com os da literatura

Para comparação das concentrações obtidas neste estudo com os da literatura, foram selecionadas as espécies mais semelhantes às corujas *T. alba* e *S. aluco*. Optou-se, por ordem decrescente de preferência, por aves com a mesma posição trófica e pequenos mamíferos com dieta semelhante às mesmas. Os dados foram compilados na tabela 8, juntamente com os dados obtidos no presente estudo.

Os dados de acumulação de Hg existentes nas espécies em estudo resumem-se a amostras de penas, não se tendo encontrado informação relativamente a outros tecidos.

Tabela 8: Concentrações de Hg (mg/kg, peso seco), encontrados na literatura e obtidos no presente estudo. Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH).

Espécie	Tecidos	Concentração Hg	Unidades	Literatura
<i>Buteo buteo</i>	F	0,78–4,50	mg/kg ps	Houserova et al., 2005
	M	0,60–1,69		
	R	1,09–2,65		
<i>Herpestes ichneumon</i>	F	0,10–3,70	mg/kg ps	Sandra Rodrigues, 2012
	M	0,09–1,60		
	R	0,08–2,80		
	CE	0,02–1,40		
	CO	0,05–1,30		
	PU	0,05–0,97		
<i>Tyto alba</i>	F	0,08–2,29	mg/kg ps	Presente estudo
	M	0,04–1,41		
	R	0,03–2,17		
	T	0,02–1,34		
	CE	0,01–1,54		
	CO	0,01–1,85		
	PE	0,02–1,34		
	PU	0,05–1,64		
	PEN	0,04–3,63		
	UNH	0,18–4,48		
<i>Strix aluco</i>	F	0,06–1,57	mg/kg ps	Presente estudo
	M	0,02–0,78		
	R	0,06–1,65		
	T	0,016–0,85		
	CE	0,03–0,62		
	CO	0,05–0,92		
	PE	0,01–0,46		
	PU	0,04–1,05		
	PEN	0,26–1,70		
	UNH	0,24–2,11		

Buteo buteo é uma espécie de interesse para comparação com as corujas em estudo pois possui algumas características semelhantes: apresenta capacidade de adaptação a uma grande variedade de habitats, sendo o seu habitat preferencial a borda da floresta ou mosaicos de florestas e áreas abertas, tal com as corujas; a sua dieta também é versátil, dependendo das presas disponíveis, sendo os pequenos mamíferos geralmente predominantes, mas, em algumas áreas, os invertebrados também constituem uma parte importante da sua dieta ¹⁰¹.

Ainda assim, em comparação com *B. buteo*, as concentrações de Hg obtidas nos tecidos de *T. alba* e *S. aluco* foram notavelmente mais baixas. Isto explica-se por possíveis diferenças em fatores que podem ter tido influência na acumulação de Hg nos tecidos, tais como diferenças geográficas e possíveis diferenças de tamanho (*B. buteo* é uma ave maior).

Apesar de não se tratar de uma ave, considerou-se também oportuna a comparação dos resultados obtidos com um estudo efetuado anteriormente, em Portugal, com o mamífero *Herpestes ichneumon*, onde também foram analisados vários tecidos. De notar que esta espécie terá outras vias de exposição diferentes (por exemplo o solo), por se tratar de um organismo terrestre.

De um modo geral, os resultados obtidos neste estudo foram bastante semelhantes aos obtidos nesse mamífero. Em relação ao fígado, rim e músculo, no presente estudo a espécie mais semelhante foi *T. alba*. Os níveis obtidos em *S. aluco* foram mais baixos, mas demonstraram o mesmo padrão de resultados: o fígado teve os valores mais elevados, seguido pelo rim, sendo o músculo a apresentar os níveis mais baixos destes 3 tecidos. Isto explica-se pelo facto de, apesar de se tratarem de grupos de vertebrados distintos, as funções desses órgãos serem comuns.

Em relação aos valores no cérebro e coração, os de *T. alba* foram também semelhantes aos de *H. ichneumon*. Já no pulmão, os níveis de *H. ichneumon*, foram mais próximos de *S. aluco*.

Apesar das diferenças óbvias entre este mamífero e as corujas, existem algumas semelhanças que explicam a proximidade dos resultados: *H. ichneumon* trata-se uma espécie predadora com um papel essencial nos ecossistemas terrestres, sendo as suas principais presas os coelhos, roedores, aves, répteis e

insetos, tal como *T. alba* e *S. aluco*. Para além disso, habita em territórios campestres, tal como a *S. aluco*, estando geralmente exposto a condições ambientais idênticas ¹⁰². Deste modo, é igualmente relevante em estudos de biomonitorização em Portugal, tendo já fornecido informações adicionais no nível de contaminação no ecossistema terrestre ⁹².

4. Conclusões e considerações finais

Neste estudo observou-se uma acumulação diferencial de Hg nos diversos tecidos das aves analisadas, com concentrações mais elevadas nas penas e nas unhas e mais baixas no cérebro e na pele, nas duas espécies de corujas.

Os valores de concentração total de Hg nos tecidos variaram entre 0,01 e 4,5 mg/kg em peso seco em *T. alba*, e 0,02 a 2,1 mg/kg em peso seco em *S. aluco*.

Verificaram-se correlações positivas entre unhas, penas e tecidos internos para *T. alba*, mas o mesmo não se sucedeu nos tecidos de *S. aluco*. Quanto ao fígado e rim, apresentaram correlações positivas entre si, em ambas as espécies de corujas. O mesmo aconteceu com o músculo e o coração, e o pulmão e trato gastrointestinal.

As espécies analisadas não apresentaram diferenças significativas entre si, o que se explica pela elevada variabilidade entre os indivíduos analisados, resultante de vários fatores como o género, tamanho e localização que podem influenciar os resultados.

A razão entre as concentrações de Hg nos tecidos das duas espécies foram relativamente constantes, o que parece refletir mecanismos fisiológicos de distribuição de contaminantes semelhantes entre as espécies.

Também se pôde concluir que os mecanismos fisiológicos de distribuição de contaminantes, podem ser tão relevantes como a contaminação ambiental (por exemplo a dieta), na distribuição do Hg nos diferentes tecidos analisados.

Para além disso, verificou-se também que fatores como a faixa etária, o tamanho das aves e a localização, podem não ser determinantes para a acumulação do Hg nos tecidos. De notar que o número de amostras foi pequeno e as condições de alguns organismos poderiam provocar alterações nas análises.

Por fim, o trabalho evidencia que o uso das unhas e penas para a monitorização da acumulação do Hg é adequado, pois reflete a contaminação em outros tecidos e diminui as dificuldades analíticas de quantificação de elementos (tecidos com concentrações mais elevadas).

Como estudo futuro seria importante analisar um maior número de corujas de cada espécie, de modo a apresentar resultados mais sustentados e estatisticamente robustos. Para além disso, seria interessante colher amostras de tecidos das presas mais frequentes de *T. alba* e *S. aluco* (por exemplo roedores), nas localidades das corujas analisadas. Isso permitiria a avaliação da contaminação de Hg na sua dieta e também uma melhor explicação para as diferenças entre as concentrações de Hg obtidas nas duas espécies. Seria também muito interessante avaliar os efeitos fisiológicos e bioquímicos dos contaminantes nos tecidos onde se avaliou a acumulação do Hg.

5. Referências bibliográficas

1. Adriano DC, Bolan NS, Bon-Koo BJ, Naidu R, Van Der Lelie D, Vangronsveld J, Wenzel WW. Natural remediation processes: Bioavailability interactions in contaminated soils. Em: *Proc. 17th World Congress of Soil Science.* ; 2002:501–512.
2. Adriano DC. *Trace elements in the terrestrial environment.*; 1986.
3. Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Heavy metals toxicity and the environment. *Mol Clin Environ Toxicol.* 2012;101:133–164. <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-77950880787&partnerID=tZOtx3y1>.
4. Kubota S., Tsuchiya Y. *Water quality and standards.* Vol II.; 2010.
5. Moore JW. *Inorganic Contaminants of Surface Water: Research and Monitoring Priorities.* 1.^a ed. Springer-Verlag New York Inc.; 1991.
6. Järup L. Hazards of heavy metal contamination. *Br Med Bull.* 2003;68:167–182.
7. Ghosh M, Singh SP. A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. *As J Energy Env.* 2005;6(604):214–231.
8. Nriagu JO, Pacyna JM. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature.* 1988;333(6169):134–139.
9. Henry JR. *An overview of the phytoremediation of lead and mercury.*; 2000.
10. United States Environmental Protection Agency. *Cleaning Up the Nation's Waste Sites : Markets and Technology Trends.* Washingto DC.; 1997.
11. Zolfaghari G, Esmaili-sari A, Mahmoud S, Rajabi R, Hassanzade B. A multispecies-monitoring study about bioaccumulation of mercury in Iranian birds (Khuzestan to Persian Gulf): Effect of taxonomic affiliation and trophic level. *Environ Res.* 2009;109(7):830–836.
12. Burger J, Gochfeld M. Risk, mercury levels, and birds: relating adverse laboratory effects to field biomonitoring. *Environ Res.* 1997;75(2):160–172.
13. Carneiro M, Colaço B, Brandão R, et al. Biomonitoring of heavy metals (Cd, Hg, and Pb) and metalloid (As) with the Portuguese common buzzard (*Buteo*

- buteo*). *Environ Monit Assess*. 2014;186(11):7011–7021.
14. Seewagen CL. Threats of environmental mercury to birds: knowledge gaps and priorities for future research. *Bird Conserv Int*. 2010;20(2):112–123.
 15. Lipnick RL, Hermens J, Jones K, Muir D. *Persistent, bioaccumulative, and toxic chemicals I*. Vol 772. (Lipnick RL, Hermens JLM, Jones KC, Muir DCG, eds.). Washington, DC: American Chemical Society; 2000.
 16. Lourenço R, Tavares PC, Delgado MM, Rabaça JE, Penteriani V. Superpredation increases mercury levels in a generalist top predator, the eagle owl. *Ecotoxicology*. 2011;20(4):635–642.
 17. Windham-Myers L, Marvin-dipasquale M, Stricker CA, Agee JL, Kieu LH, Kakouros E. Mercury cycling in agricultural and managed wetlands of California, USA: Experimental evidence of vegetation-driven changes in sediment biogeochemistry and methylmercury production. *Sci Total Environ*. 2014;484:300–307.
 18. Furness RW, Camphuysen CJ. Seabirds as monitors of the marine environment. *ICES J Mar Sci*. 1997;54:726–737.
 19. Amos HM, Jacob DJ, Streets DG, Sunderland EM. Legacy impacts of all-time anthropogenic emissions on the global mercury cycle. *Global Biogeochem Cycles*. 2013;27(2):410–421.
 20. Krabbenhoft DP, Sunderland EM. Global Change and Mercury. *Science (80-)*. 2013;341:1457–1458.
 21. Wolfe MF, Schwarzbach S, Sulaiman RA. Effects of mercury on wildlife: A comprehensive review. *Environ Toxicol Chem*. 1998;17(2):146–160.
 22. Parlamento Europeu, Conselho da União Europeia. Directiva 2008/105/CE, de 16 de Dezembro de 2008. *J Of da União Eur*. 2008:14.
 23. Hill FE, Shaffner CF. Sexual Maturation and Productivity of Japanese Quail Fed Graded Concentrations of Mercuric Chloride. 1976;55:1449–1459.
 24. Jensen S, Jernelöv A. Biological methylation of mercury in aquatic organisms. *Nature*. 1969;223(5207):753–754.
 25. Mason RP, Choi AL, Fitzgerald WF, Hammerschmidt CR, Lamborg CH, Soerensen AL, Sunderland EM. Mercury biogeochemical cycling in the ocean and policy implications. *Environ Res*. 2012;119:101–117.

26. Wagemann RU, Trebacz E, Boila G, Lockhart WL. Methylmercury and total mercury in tissues of arctic marine mammals. *Sci Total Environ*. 1998;218:19–31.
27. Evers DC, Han Y-J, Driscoll CT, et al. Biological mercury hotspots in the northeastern United States and southeastern Canada. *Bioscience*. 2007;57(1):29.
28. Borg K, Erne K, Hanko E, Wanntorp H. Experimental secondary methyl mercury poisoning in the goshawk (*Accipiter G. Gentilis L.*). *Environ Pollut*. 1970;1(2):91–104.
29. Scheuhammer AM, Meyer MW, Sandheinrich MB, Murray MW. Effects of environmental methylmercury on the health of wild birds, mammals, and fish. *Ambio*. 2007;36(1):12–18.
30. Woodruff TJ. Bridging epidemiology and model organisms to increase understanding of endocrine disrupting chemicals and human health effects. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2011;127(1–2):108–117.
31. Gómez-ramírez P, Shore RF, Brink NW. VD, et al. An overview of existing raptor contaminant monitoring activities in Europe. *Environ Int*. 2014;67:12–
32. Helander B, Bignert A, Asplund L. Using raptors as environmental sentinels: monitoring the White-tailed Sea Eagle *Haliaeetus albicilla* in Sweden. 2008;37(6):401–407.
33. Oxynos K, Schmitzer J, Kettrup A. Herring gull eggs as bioindicators for chlorinated hydrocarbons (contribution to the German Federal Environmental Specimen Bank). 1993;140:387–398.
34. Van Wyk E, Bouwman H, Van Der Bank H, Verdoorn GH, Hofmann D. Persistent organochlorine pesticides detected in blood and tissue samples of vultures from different localities in South Africa. *Comp Biochem Physiol - C Toxicol Pharmacol*. 2001;129(3):243–264.
35. Rattner BA. History of wildlife toxicology. *Ecotoxicology*. 2009;18(7):773–783.
36. Becker PH. Biomonitoring with birds. *Trace Met other Contam Environ*. 2003;6:677–736.
37. Hoffman DJ, Pattee OH, Wiemeyer, S. N. Effects of fluoride on screech owl reproduction: teratological evaluation, growth, and blood chemistry in

- hatchlings. *Toxicol Lett.* 1985;26:19–24.
38. Berg W, Johnels A, Sjöstrand B, Westermark T, Sjostrand B. Mercury Content in Feathers of Swedish Birds from the Past 100 Years. *Oikos.* 1966;17(1):71.
 39. Sheffield S. Owls as biomonitors of environmental contamination. *United States Dep Agric For Serv Gen Tech Rep NC.* 1997:383–398.
 40. Dietz R, Riget F, Cleemann M, Aarkrog A, Johansen P, Hansen JC. Comparison of contaminants from different trophic levels and ecosystems. *Sci Total Environ.* 2000;245(1–3):221–231.
 41. Ruelas-inzunza J, Hernández-osuna J, Páez-osuna F. Chemosphere organic and total mercury in muscle tissue of five aquatic birds with different feeding habits from the SE Gulf of California, Mexico. *Chemosphere.* 2009;76(3):415–418.
 42. Honda K, Yoon Min B, Tatsukawa R. Distribution of heavy metals and their age-related changes in the Eastern Great White Egret, *Egretta alba modesta*, in Korea. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1986;15:185–197.
 43. Houserova P, Hedbavny J, Matejcek D, Kracmar S, Sitko J, Kuban V. Determination of total mercury in muscle, intestines, liver and kidney tissues of cormorant. *Vet Med (Praha).* 2005;50(2):61–68.
 44. Hahn E, Hahn K, Stoeppler M. Bird feathers as bioindicators in areas of the German environmental specimen bank - bioaccumulation of mercury in food chains and exogenous deposition of atmospheric pollution with lead and cadmium. *Sci Total Environ.* 1993;140:259–270.
 45. Elliott JE, Notstrom RJ, Smith GEJ. Patterns, trends, and toxicological significance of chlorinated hydrocarbon and mercury contaminants in bald eagle eggs from the Pacific coast of Canada, 1990-1994. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1996;31(3):354–367.
 46. Thompson DR, Hamer KC, Furness RW. Mercury accumulation in great skuas *Catharacta skua* of known age and sex, and its effects upon breeding and survival. *J Appl Ecol.* 1991;28(2):672–684.
 47. Braune BM. Comparison of total mercury levels in relation to diet and molt for 9 species of marine birds. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1987;16(2):217–224.
 48. Roque I, Lourenço R, Marques A, Coelho JP, Coelho C, Pereira E, Rabaça

- JE, Roulin A. Barn owl feathers as biomonitors of mercury: sources of variation in sampling procedures. *Ecotoxicology*. 2016;25(3):469–480.
49. Lewis SA, Furness RW. Mercury accumulation and excretion in laboratory reared black-headed gull *Larus ridibundus* chicks. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1991;21(2):316–320.
 50. Fimreite N. Mercury contamination of aquatic birds in northwestern Ontario. *J Wildl Manage*. 1974;38(1):120–131.
 51. Furness R, Hutton M. Pollutant levels in the great skua *Catharacta skua*. *Environ Pollut*. 1979;19(4):261–268.
 52. Hutton M. Accumulation of heavy metals and selenium in three seabird species from the United Kingdom. *Environ Pollution Ser A, Ecol Biol*. 1981;26(2):129–145.
 53. Bridger MA, Thaxton PJ. Humoral immunity in the chicken as affected by mercury. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1983;12:45–49.
 54. Roque IMF. The barn owl (*Tyto alba*) as a biomonitor of environmental contamination with mercury and organochlorine compounds. 2016.
 55. Ramsden DJ. *Barn Owls and Major Roads – The Barn Owl Trust.*; 2003.
 56. Silva CI, Grilo C, Mira A. Modelling owl mortality on roads of Alentejo (Southern Portugal). *Airo*. 2008;18:3–12.
 57. Venable NJ. *Birds of Prey*. West Virginia University; 1996.
 58. Jaksić FM, Seib RL, Herrera CM. Predation by the Barn owl (*Tyto alba*) in Mediterranean habitats of Chile, Spain and California. *Am Midl Nat*. 1982;107(1):151–162.
 59. Rufino R. *Atlas das aves que nidificam em Portugal Continental*. (Ministério do Plano e da Administração do Território, Serviço Nacional de Parques R e C da N, ed.). Lisboa; 1989.
 60. Bellocq MI. A review of the trophic ecology of the Barn Owl in Argentina. *J Raptor Res*. 2000;34(2):108–119.
 61. Rocha RG, Ferreira E, Leite YLR, Fonseca C, Costa LP. Small mammals in the diet of barn owls, *Tyto alba* (Aves: Strigiformes) along the mid-Araguaia river in central Brazil. *Zool*. 2011;28(6):709–716.
 62. John Fast S, Ambrose HW. The University of Notre Dame prey preference

- and hunting habitat selection in the Barn Owl. 1976;96(2):503–507.
63. Scheibler DR, Christoff AU. Small mammals in the diet of barn owls (*Tyto alba*) in agroecosystems of southern Brazil. *Ornitol Neotrop*. 2004;15:65–70.
 64. Leveau LM, Teta P, Bogdaschewsky R. Feeding habits of the barn owl (*Tyto Alba*) along a longitudinal-latitude gradient in central Argentina. 2006;(August):353–362.
 65. Trejo A, Lambertucci S. Feeding habits of barn owls along a vegetative gradient in northern Patagonia. *J Raptor Res*. 2007;41(4):277–287.
 66. Herrera CM. Trophic diversity of the Barn Owl *Tyto alba* in continental Western Europe. *Ornis Scand*. 1974;5:181–191.
 67. Real R, Barbosa AM, Porras D, et al. Relative importance of environment, human activity and spatial situation in determining the distribution of terrestrial mammal diversity in Argentina. *J Biogeogr*. 2003;30(6):939–947.
 68. Lopes I. *Coruja-do-mato Strix aluco*; 2014.
 69. Hardy J, Crick H, Wernham C, Riley H, Etheridge B, Thompson D. Tawny Owl. Em: *Raptors: a field guide for surveys and monitoring*. 2.^a ed. Stationery Office Books; 2009:370.
 70. Galeotti P, Morimando F, Violani C. Feeding ecology of the tawny owls (*Strix aluco*) in urban habitats (northern Italy). *Bolletino di Zool*. 1991;58(2):143–150.
 71. Mikkola H. *Owls of Europe*. T. and A. D. Poyser; 1983.
 72. Southern HN. Tawny Owls and Their Prey. *Ibis (Lond 1859)*. 1954;96(3):384–410.
 73. Zalewski A. Diet of suburban and urban tawny owls (*Strix aluco*) in the breeding season. *J Raptor Res*. 1994;28(4):246–252.
 74. Zawadzka D, Zawadzki J. Feeding ecology of tawny owl (*Strix aluco*) in Wigry National Park (North East Poland). *Acta Zool Litu*. 2007;17(3):234–241.
 75. Southern HN, Vaughan R, Muir RC. The behaviour of young tawny owls after fledging. *Bird Study*. 1954;1(3):101–110.
 76. Equipa Atlas. *Atlas das Aves Nidificantes em Portugal (1999-2005)*. (Assírio & Alvim, ed); 2008.
 77. Goszczynski J, Jablonski P, Lesinski G, Romanowski J. Variation in diet of

- tawny owl *Strix aluco* L. along an urbanization gradient. *Acta Ornithol.* 1993;27(2):113–123.
78. Redpath SM. Habitat fragmentation and the individual: tawny owls *Strix aluco* in woodland patches. *J Anim Ecol.* 1995;64(5):652–661.
 79. Southern HN. Population ecology: mortality and population control. *Ibis (Lond 1859).* 1959;101(3–4):429–436.
 80. Petty SJ. Diet of tawny owls (*Strix aluco*) in relation to field vole (*Microtus agrestis*) abundance in a conifer forest in northern England. *J Zool.* 1999;248(4):451–465.
 81. Southern BYHN, Lowe VPW. The pattern of distribution of prey and predation in tawny owl territories. *J Anim Ecol.* 1968;37(1):75–97.
 82. Jedrzejewski W, Jedrzejewska B, Szymura A, Zub K. Tawny owl (*Strix aluco*) predation in a pristine deciduous forest (Bialowieza National Park, Poland). *J Anim Ecol.* 1996;65(1):105–120.
 83. Yalden DW. Dietary separation of owls in the Peak District. *Bird Study.* 1985;32(2):122–131.
 84. Bochenski Z. The food of suburban Tawny Owls on the background of birds and mammals occurring in the hunting territory. *Acta Zool Cracoviensia.* 1990;33(9):149–171.
 85. Kirk DA. Diet changes in breeding Tawny Owls (*Strix aluco*). *J Raptor Res.* 1992;26(4):239–242.
 86. Hopkins WA, Hopkins LB, Unrine JM, Snodgrass J, Elliot JD. Mercury concentrations in tissues of osprey from the Carolinas, USA. *J Wildl Manage.* 2007;71(6):1819–1829.
 87. Costley CT, Mossop KF, Dean JR, Garden LM, Marshall J, Carroll J. Determination of mercury in environmental and biological samples using pyrolysis atomic absorption spectrometry with gold amalgamation. *Anal Chim Acta.* 2000;405(1–2):179–183.
 88. Braune BM, Gaskin DE. A mercury budget for the Bonaparte's Gull during autumn moult. *Ornis Scand.* 1987;18(4):244–250.
 89. Honda K, Nasu T, Tatsukawa R. Seasonal changes in mercury accumulation in the black-eared kite, *Milvus migrans lineatus*. *Environ Pollut Ser A, Ecol*

- Biol.* 1986;42:325–334.
90. Sawyer RH, Glenn TC, French JO, Knapp LW. Developing antibodies to synthetic peptides based on comparative DNA sequencing of multigene families. *Methods Enzymol.* 2005;395(1998):636–652.
 91. Burger J, Gochfeld M. Heavy metal and selenium levels in feathers of young egrets and herons from Hong Kong and Szechuan, China. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1993;25(3):322–327.
 92. Rodrigues S, Coelho JP, Bandeira V, Barros T. Mercury bioaccumulation in the egyptian mongoose (*Herpestes ichneumon*): geographical, tissue, gender and age differences. *Water Air Soil Pollut.* 2014;225(6):1–11.
 93. Berzas Nevado JJ, Rodríguez Martín-Doimeadios RC, Mateo R, Rodríguez Fariñas N, Rodríguez-Estival J, Patiño Roperro MJ. Mercury exposure and mechanism of response in large game using the Almadén mercury mining area (Spain) as a case study. *Environ Res.* 2012;112:58–66.
 94. Zheng W, Aschner M, Gherzi-egea J. Brain barrier systems: a new frontier in metal neurotoxicological research. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2003;192:1–11.
 95. Ballabh P, Braun A, Nedergaard M. The blood-brain barrier: An overview: Structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiol Dis.* 2004;16(1):1–13.
 96. March BE, Poon R, Chu S. The dynamics of ingested methyl mercury in growing and laying chickens. *Poult Sci.* 1983;62:1000–1009.
 97. Goutner V, Furness RW, Papakostas G. Mercury in feathers of Squacco Heron (*Ardeola ralloides*) chicks in relation to age, hatching order, growth, and sampling dates. *Environ Pollut.* 2001;111(1):107–115.
 98. Monteiro LR, Furness RW. Seabirds as monitors of mercury in the marine environment. *Water, Air, Soil Pollut.* 1995;80(1–4):851–870.
 99. Dietz R, Riget F, Born E. Geographical differences of zinc, cadmium, mercury and selenium in polar bears (*Ursus maritimus*) from Greenland. *Sci Total Environ.* 2000;245(1–3):25–47.
 100. Rodrigues S. Bioacumulação do mercúrio no sacarrabos (*Herpestes ichneumon*). 2012.
 101. Hoyo J del, Elliott A, Sargatal J, eds. *Handbook of the Birds of the World*. Lynx

Edici. Barcelona; 1994.

102. Barros TSQ. Sacarrabos (*Herpestes ichneumon*). (2008). Disponível em: http://www.santohuberto.com/sh_conteudo.asp?id=1184. (Acedido: 4.a Outubro 2017)

ANEXOS

Anexo I.1: Concentrações de Hg total nos tecidos de *Tyto alba* (mg/kg, peso seco) – Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH). CV – coeficiente de variação (n=3).

F	CV (%)	M	CV (%)	R	CV (%)	T	CV (%)	CE	CV (%)	CO	CV (%)	PE	CV (%)	PU	CV (%)	PEN	CV (%)	UNH	CV (%)
1,5	2,6	0,87	1,6	1,3	6,1	0,55	1,7	0,96	1,3	1,2	7,0	0,42	1,2	1,3	0,4	2,4	3,7	4,5	16,2
1,7	0,4	0,96	3,6	1,6	2,5	0,85	6,3	0,98	2,4	1,3	4,0	0,80	4,9	1,2	2,6	0,65	7,5	3,3	0,2
2,1	1,8	1,1	2,0	1,8	1,4	1,3	6,2	1,2	3,5	1,5	1,2	0,77	6,2	1,6	1,6	3,0	3,9	3,5	0,9
1,5	5,4	0,74	0,4	1,0	0,7	0,65	1,6	0,74	0,7	0,88	0,4	0,38	4,3	0,64	9,4	0,87	1,5	1,7	4,0
1,5	4,9	0,82	2,7	1,5	8,5	1,1	9,9	0,68	9,2	1,1	3,3	0,54	1,6	1,2	3,3	1,8	1,9	1,7	7,6
2,2	5,2	0,89	3,0	1,3	5,7	0,96	1,0	0,94	3,0	1,2	2,5	0,46	5,3	1,1	2,5	2,5	4,6	3,8	1,1
0,082	6,6	0,014	4,3	0,029	7,8	0,020	2,9	0,0081	8,3	0,015	8,2	0,023	3,1	0,013	3,5	0,041	7,2	0,31	9,9
1,6	1,7	0,25	0,3	0,97	0,3	0,52	7,0	0,33	1,6	0,68	3,8	0,23	1,7	0,62	0,1	0,30	1,5	1,8	1,9
0,84	1,7	0,28	2,3	0,60	4,1	0,33	3,9	0,37	0,2	0,42	1,0	0,32	3,5	0,36	0,6	3,4	5,0	3,7	1,9
2,3	2,3	1,4	2,7	2,2	1,0	1,0	8,5	1,5	4,5	1,9	4,9	1,34	7,3	1,6	8,9	3,6	5,3	4,4	7,5
1,6	8,2	0,77	3,6	1,3	2,1	0,66	0,1	0,62	5,9	1,2	9,4	0,36	2,5	0,93	4,9	1,5	2,2	1,9	6,5
2,1	6,4	0,94	0,7	1,4	1,2	1,1	0,0	0,72	0,7	1,5	2,4	0,44	7,6	1,1	3,4	0,44	4,0	0,81	1,9
1,0	8,4	0,25	5,3	0,38	1,4	0,21	3,8	0,20	0,3	0,39	4,4	0,15	5,7	0,27	5,4	0,66	1,6	0,86	4,3
0,13	4,9	0,039	8,9	0,080	3,7	0,037	3,2	0,030	5,3	0,065	6,2	0,036	7,3	0,047	6,6	0,14	9,2	0,19	2,2
0,15	3,4	0,056	9,7	0,083	5,9	0,030	6,0	0,052	4,0	0,063	1,8	0,042	9,0	0,045	4,8	0,33	0,0	0,47	4,3

Anexo I.2: Concentrações de Hg total nos tecidos de *Strix aluco* (mg/kg, peso seco) – Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH). CV – coeficiente de variação (n=3).

F	CV (%)	M	CV (%)	R	CV (%)	T	CV (%)	CE	CV (%)	CO	CV (%)	PE	CV (%)	PU	CV (%)	PEN	CV (%)	UNH	CV (%)
0,24	1,0	0,16	1,4	-----	----	0,083	0,8	0,16	3,1	0,17	7,6	0,11	3,3	0,18	2,1	0,50	0,6	2,1	6,6
0,056	0,5	0,018	3,4	0,059	6,2	0,016	3,4	0,026	0,7	0,048	3,3	0,015	1,5	0,036	3,4	0,26	1,7	0,24	0,5
0,43	2,0	0,21	4,1	0,34	4,6	0,079	0,5	0,18	2,3	0,20	5,2	0,057	2,8	0,29	0,1	1,7	3,1	1,4	1,9
1,3	2,4	0,78	1,8	1,6	3,6	0,85	0,7	0,50	2,2	0,92	1,2	0,42	5,7	0,97	6,6	0,94	4,0	1,2	4,2
0,77	0,8	0,60	2,6	1,0	1,5	0,54	3,3	0,61	0,5	0,66	0,4	0,27	7,8	0,62	2,5	1,2	3,7	2,0	6,6
1,2	0,6	0,76	2,8	1,1	4,4	0,64	4,5	0,62	1,6	0,88	0,6	0,46	1,6	0,85	1,6	1,7	2,6	2,1	9,8
1,6	2,8	0,60	2,6	1,3	0,9	0,56	3,3	0,61	2,0	0,80	9,3	0,27	2,8	1,1	6,4	1,1	1,9	1,3	5,6

Anexo II.1: Concentrações médias de Hg (mg/kg, peso seco), nos tecidos de *Tyto alba* – Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH).

	F	M	R	T	CE	CO	PE	PU	PEN	UNH
M	1,4	0,63	1,0	0,63	0,62	0,88	0,42	0,80	1,4	2,2
DP	0,75	0,44	0,67	0,43	0,45	0,58	0,35	0,56	1,2	1,5

M – média; DP- desvio padrão

Anexo II.2: Concentrações médias de Hg (mg/kg, peso seco), nos tecidos de *Strix aluco* – Fígado (F), músculo (M), rim (R), trato gastrointestinal (T), cérebro (CE), coração (CO), pele (PE), pulmão (PU), pena (PEN) e unha (UNH).

	F	M	R	T	CE	CO	PE	PU	PEN	UNH
M	0,79	0,45	0,91	0,39	0,39	0,52	0,23	0,57	1,1	1,5
DP	0,57	0,31	0,60	0,33	0,26	0,37	0,17	0,41	0,55	0,66

M – média; DP- desvio padrão